

SÉRIE A, N° 1175

N° D'ORDRE :

2040

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Etienne LEBLOND

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA MORPHOLOGIE ET LA
CINÉTIQUE DE QUELQUES BIO-COLLOÏDES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 19 DEC 1928
décembre 1928 devant la Commission d'examen

Président : MM. ET. RABAUD.

Examineurs { DEREIMS.
COMBES.

PARIS

Édition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1928



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547913_0032

SÉRIE A, N° 1175

N° D'ORDRE :

2040

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

Etienne LEBLOND

1^{re} THÈSE. — RECHERCHES SUR LA MORPHOLOGIE ET LA
CINÉTIQUE DE QUELQUES BIO-COLLOÏDES.

2^e THÈSE. — PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ.

Soutenues le 19 DEC 1928
décembre 1928 devant la Commission d'examen

Président : MM. ET. RABAUD.

Examineurs { DEREIMS.
COMBES.

PARIS

Édition du Bulletin Biologique de la France et de la Belgique
105, Boulevard Raspail

1928

FACULTÉ DES SCIENCES DE L'UNIVERSITÉ DE PARIS

MM.

Doyen..... C. MAURAIN, *Professeur*, Physique du globe.

Doyens honoraires.. P. APPELL, M. MOLLIARD.

<i>Profess. honoraires.</i>	{	J. BOUSSINESQ.	A. FERNBACH.
		A. JOANNIS.	A. LEDUC.
		H. LE CHATELIER.	R. DONGIER.
		H. LEBESGUE.	E. HÉROUARD.

<i>Professeurs</i>	{	EMILE PICARD.....	Analyse supér. et algèbre supérieure.
		G. KOENIGS.....	Mécanique physique et expérimentale.
		E. GOURSAT.....	Calcul différentiel et calcul intégral.
		P. JANET.....	Electrotechnique générale.
		F. WALLERANT...	Minéralogie.
		H. ANDOYER.....	Astronomie.
		P. PAINLEVÉ.....	Mécanique anal. et mécanique céleste.
		GABRIEL BERTRAND	Chimie biologique.
		M ^{me} P. CURIE.....	Physique générale et radioactivité.
		M. CAULLERY.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés)
		G. URBAIN.....	Chimie minérale
		EMILE BOREL.....	Calcul des probabilités et phys. mathém.
		L. MARCHIS.....	Aviation.
		JEAN PERRIN.....	Chimie physique.
		RÉMY PERRIER.....	Zoologie (Enseignement P. C. N.).
		H. ABRAHAM.....	Physique.
		M. MOLLIARD.....	Physiologie végétale.
		E. CARTAN.....	Géométrie supérieure.
		L. LAPICQUE.....	Physiologie générale.
		E. VESSIOT.....	Théorie des fonct. et th. des transf.
		A. COTTON.....	Physique générale.
		J. DRACH.....	Application de l'analyse à la géométrie.
		CHARLES FABRY...	Physique.
		CHARLES PÉREZ...	Zoologie.
		LÉON BERTRAND...	Géolog. structurale et géolog. appliquée.
		R. LESPIEAU.....	Théories chimiques.
		E. RABAUD.....	Biologie expérimentale.
		P. PORTIER.....	Physiologie comparée.
		E. BLAISE.....	Chimie organique.
		P.-A. DANGEARD..	Botanique.
		P. MONTEL.....	Mécanique rationnelle.
		P. WINTREBERT..	Anatomie et histologie comparées.
		O. DUBOSQ.....	Biologie maritime.
		G. JULIA.....	Mathématiques générales.
A. MAILHE.....	Etude des combustibles.		
L. LUTAUD.....	Géogr. physique et géol. dynamique.		
EUGÈNE BLOCH.....	Physique théorique et phys. céleste.		
HENRI VILLAT.....	Mécanique des fluides et applications.		
CH. JACOB.....	Géologie.		
P. PASCAL.....	Chimie appliquée.		
N.....	Chimie générale.		



E. PECHARD.....	Chimie (Ens. P. C. N.).	G. BRUHAT.....	Physique.
V. AUGER.....	Chimie analytique.	H. MOUTON.....	Chimie physique.
M. GUICHARD.....	Chimie minérale.	L. JOLEAUD.....	Paléontologie.
A. GUILLET.....	Physique.	M. JAVILLIER.....	Chimie biologique.
C. MAUGUIN.....	Minéralogie.	A. DUFOUR.....	Physique (P. C. N.).
L. BLARINGHEM	Botanique.	F. PICARD.....	Zoologie (Evolution des êtres organisés)
A. MICHEL-LÉVY	Pétrographie.	ROBERT-LÉVY.....	Zoologie.
A. DEREIMS.....	Géologie.	L. DUNOYER.....	Optique appliquée.
A. DENJOY.....	Calcul diff. et int.	A. GUILLIERMOND.	Botanique (P. C. N.).
H. BENARD.....	Physique (P. C. N.).	A. DEBIERNE.....	Radioactivité.
E. DARMOIS.....	Physique.		

Secrétaire..... DANIEL TOMBECK.

Etienne **LEBLOND**

RECHERCHES SUR
LA MORPHOLOGIE ET LA CINÉTIQUE
DE QUELQUES BIO-COLLOIDES

(avec les planches IX et X et 7 figures dans le texte).

SOMMAIRE

	Pages
PRÉAMBULE	416
I. — GÉNÉRALITÉS SUR LES COLLOÏDES.	419
II. — STRUCTURE DES BIO-COLLOÏDES.	424
III. — MÉTHODE DE RECHERCHES	432
IV. — OBSERVATIONS	435
V. — LE MOUVEMENT BROWNIEN DANS LA CELLULE VIVANTE.	449
VI. — MUTATIONS DES ÉTATS COLLOÏDAUX DANS LE CYTO- PLASMA. Le passage du gel au sol et sa signification biolo- gique	454
VII. — CINÉTIQUE DES MICELLES CYTOPLASMIQUES ET MOUVE- MENTS PROTOPLASMIQUES	461
CONCLUSIONS.	473
BIBLIOGRAPHIE	473

PRÉAMBULE

... « Nous devons nous rappeler que
« tous les phénomènes vitaux peuvent se
« ramener en fin de compte à des mou-
« vements ou des modifications qui se
« produisent dans les substances colloï-
« dales. »

(J. LEB, *La conception mécanique de la vie*, p. 99. Traduction H. MOUTON, 1914).

Les cytologistes admettent actuellement et répètent à l'envi que la majorité des substances qui entrent dans la constitution du cytoplasma des cellules vivantes est à l'état colloïdal.

Cette conception récente, si riche de promesses puisqu'elle constitue la base de toute la physiologie cellulaire et détient en puissance l'explication physico-chimique des phénomènes essentiels de la vie, est souvent présentée sous une forme didactique qui laisse supposer qu'elle repose sur des faits indiscutablement établis ; elle comporte néanmoins une grande part d'anticipation et il faut avouer qu'elle n'a jusqu'ici, contre toute attente, rendu que peu de services à la Biologie.

L'expérimentation et l'observation sont, en effet, bien loin d'avoir totalement vérifié le parallélisme qui doit exister entre les propriétés des colloïdes chimiques ou artificiels et celles des colloïdes vivants ; malgré des recherches de plus en plus nombreuses, la communauté des réactions de ces deux groupes reste encore hypothétique.

Il est vrai que dans le domaine des sciences satellites, des généralisations prématurées ont suscité de brillantes théories qui, parées des séductions de la mode, ont déterminé l'éclosion et la mise en pratique de multiples applications ; leur moindre défaut est d'avoir voulu étendre aux êtres les plus évolués, les lois parfois incertaines de la colloïdologie, sans avoir au préalable soumis celles-ci à un critérium indispensable : leur vérification objective chez les organismes élémentaires. Ce contrôle préliminaire dont dépend l'explication bio-mécanique de la plupart des phénomènes vitaux, présente encore de nombreuses lacunes et bien peu des propriétés caractéristiques des colloïdes

ont été jusqu'ici retrouvées ou vérifiées sur le protoplasma vivant.

Cette indigence est imputable à l'emploi d'une technique inappropriée aux buts poursuivis et à l'influence stérilisante de conceptions cytologiques périmées : en voulant asservir les colloïdes vivants aux procédés d'investigation qui ont été d'une rare fertilité dans leur application à l'étude des colloïdes de synthèse, les chercheurs se sont heurtés à des impossibilités matérielles, qui les ont amenés à des observations négatives ou à une fausse interprétation des faits ; d'autre part, des idées préconçues, nées de théories fallacieuses sur la constitution intime du protoplasma les empêchaient de trouver dans les lois de la colloïdité, l'explication rationnelle de nombre de faits d'observation, déjà fort anciens, et d'assigner l'importance réelle de certaines manifestations vitales de valeur jusqu'ici méconnue ; les courants plasmatiques, le mouvement brownien qui anime les corpuscules que l'on rencontre si fréquemment au sein des cytoplasmes primitifs, les mutations physiques des bio-colloïdes, doivent en effet trouver leur explication et leur véritable signification biologique, dans les lois définitivement fixées qui sont le propre des substances colloïdales.

Si l'ensemble des colloïdes connus possède des propriétés communes, leur étude n'est pourtant pas justiciable d'une technique identique. Les colloïdes protoplasmiques dont l'instabilité physico-chimique est extrême, ne peuvent être manipulés de la même façon que le classique colloïde d'hydrate de fer ; si les réactions grossières du tube à essai conviennent à celui-ci, la vulnérabilité essentielle des premiers, exige des délicatesses et des minuties que l'instrumentation actuelle est loin de permettre ; l'Ultramicroscope lui-même, sur lequel furent fondés tant d'espoirs, s'approprie mal à l'étude des cellules vivantes et ne permet d'en tirer que des renseignements peu profitables.

Ces considérations ne doivent pourtant pas conduire à un pessimisme que la Science n'admet pas et je vais m'efforcer à prouver, au cours de ce travail, qu'en dépit de moyens d'investigation encore précaires, l'étude de la colloïdité chez les cellules vivantes, peut fournir d'abondantes moissons, à la condition d'être orientée dans un sens nouveau et rationnel et

d'abandonner délibérément certaines notions de cytologie classique.

L'application aux bio-colloïdes de principes généraux de physico-chimie colloïdale qui seront développés et discutés au cours de ce travail, m'a amené à considérer que la micelle protoplasmique atteint, dans la cellule vivante, un volume de beaucoup supérieur à celui des micelles colloïdales artificielles et qu'en raison de l'énorme dimension de chacune de ses innombrables molécules constitutives il peut être légitime de la supposer accessible à l'investigation microscopique simple.

Mes recherches, en légitimant cette hypothèse, m'ont permis de constater que, contrairement à l'opinion classique, le cytoplasma n'est pas immuablement composé de colloïdes à l'état de gel, mais que ceux-ci se présentent souvent, *in vivo*, sous l'aspect d'hydrosol et qu'ils sont susceptibles de subir normalement, de fréquentes mutations réversibles.

Le contrôle et l'interprétation des lois de la colloïdité dans la cellule vivante, m'ont fourni de précieuses indications pour l'explication des manifestations mécaniques de divers phénomènes biologiques et la compréhension de certaines formations intra-cellulaires ou constituants cytoplasmiques, tels que les vacuoles ou les mitochondries, dont la signification est actuellement ardemment controversée.

Les observations que j'ai consignées au cours de ce travail, ont été généralement faites sur un matériel algal ; on pourrait être autorisé à considérer que leur portée se trouve de ce fait amoindrie et à leur refuser toute valeur de généralisation. S'il était nécessaire de justifier un choix dont le hasard est exclu, je rappellerais qu'il n'y a pas lieu d'opposer, dans un dualisme périmé, le protoplasma animal et le protoplasma végétal : il n'y a qu'une matière vivante dont les manifestations fondamentales sont identiques et constantes. J'ajouterais qu'il est nécessaire de partir du simple pour comprendre le composé ; en vertu de ce lieu commun qui n'est pas sans valeur, il m'a paru légitime d'étudier les phénomènes élémentaires de la bio-colloïdité en ayant recours à des organismes peu évolués, dont le cytoplasma présente sur le vivant de telles facilités d'examen qu'on peut, avec raison, le considérer comme le matériel d'éléction des investigations cytologiques.

Je suis heureux de pouvoir exprimer ici à M. le Professeur Etienne RABAUD, toute ma gratitude pour l'intérêt qu'il m'a témoigné au cours de mes travaux. Dès 1919, il a bien voulu présenter à la Société de Biologie les résultats de mes premières recherches. Il confère aujourd'hui à cette thèse, l'investiture de sa haute autorité scientifique : je lui en suis particulièrement reconnaissant.

J'adresse aussi mes remerciements à M. le Professeur COMBES à qui je suis redevable de savants conseils ; c'est à son obligeance que je dois certains renseignements bibliographiques dont je n'avais pu prendre connaissance en raison de mon éloignement des centres universitaires.

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LES COLLOÏDES

Si l'on veut acquérir des notions précises et fécondes sur les bio-colloïdes, il peut être dangereux de s'en référer uniquement à certains travaux qui sont du domaine des Sciences Naturelles ou Biologiques : on risquerait, pour le moins, de n'en retirer qu'une conception étroite et incomplète ; soit que les auteurs y envisagent les phénomènes colloïdaux d'une façon accidentelle et imprécise, soit que guidés par des recherches de morphologie cellulaire ou de structure histologique ils en ramènent l'étude à un point de vue trop spécial, en tout cas, ils ne les considèrent que sous un angle restreint qui les conduit à n'envisager que quelques-unes des propriétés des fausses solutions.

La colloïdité comporte des manifestations beaucoup plus amples ; les suspensions colloïdales ne représentent qu'une des modalités physiques de substances essentiellement polymorphes dont la mutabilité constitue la qualité essentiellement caractéristique et de qui l'on a pu dire que « leur existence est une continuelle métastase » (GRAHAM, 1861).

Les pseudo-solutions jouent, à la vérité, un rôle capital en biologie mais on ne peut prétendre espérer arriver à la compréhension exacte et profitable de leurs propriétés, sans recourir au commerce quelque peu ingrat des traités de colloïdologie

pure ; suivant l'aphorisme de RABAUD : « une science ne tend à devenir explicative qu'à la condition de sortir d'elle-même et de faire appel à toutes les disciplines ».

Il ne sera donc pas superflu de rappeler ici, succinctement, les lois générales de la colloïdité, et je prendrai pour guide l'ouvrage remarquable de BARY (1921).

On connaît la définition classique d'un colloïde : système de deux phases, dont l'une finement divisée et réduite à l'état polymoléculaire est dispersée dans l'autre, constituée par un milieu homogène.

Ce système diphasique est encore appelé système hétérogène dispersé, système micro-hétérogène, dispersoïde. La partie finement divisée constitue la phase dispersée ou phase interne et se trouve constituée par les granules ou micelles qui représentent l'unité physico-chimique colloïdale ; le milieu interstitiel constitue la phase dispersée, encore baptisée milieu intermicellaire, phase externe, milieu de dispersion ou phase continue. Chacune des phases peut appartenir à l'état gazeux, solide ou liquide.

Cette définition d'ordre purement physique, ne caractérise que les suspensions ; elle ne peut être étendue à certains colloïdes protéiques totalement déshydratés et il y a lieu de lui substituer une formule plus générale, basée sur une notion essentiellement caractéristique : *la Polymérisation*. En effet, toute substance colloïdale est celle dont la constitution moléculaire est polymérisée de façon constante ou acquise.

Il existe des colloïdes permanents qu'on ne connaît qu'à l'état de polymères : la gélatine, l'albumine, la cellulose, le caoutchouc sont dans ce cas ; d'autres substances, susceptibles de se polymériser peuvent passer de l'état cristallin à l'état colloïdal. Les corps dont la constitution moléculaire s'oppose à la polymérisation, ne peuvent fournir de colloïdes : il en est ainsi pour les sels de métaux monovalents. Ce caractère général fournit l'explication de l'insolubilité des granules et les raisons pour lesquelles leur dispersion dans le liquide interstitiel n'aboutit qu'à une désagrégation grossière, constituée par la formation d'éléments micellaires, dont le poids moléculaire représente des milliers de fois celui de la molécule constituante.

L'une des propriétés physiques les plus importantes des

colloïdes est celle que possèdent ces corps de *dissoudre les liquides* et de s'en gonfler pour former des gelées : ce phénomène constitue la *gélatinisation*. Une gelée est susceptible de subir différentes évolutions : c'est ainsi qu'une protéine gélatinisée, ayant pris l'état sirupeux, peut sous l'influence de certains facteurs physiques ou chimiques, se séparer en une matière semi-solide ou gel, et un liquide. Si la matière semi-solide, replacée dans les conditions primitives est incapable de reformer le liquide sirupeux, ce phénomène constitue la *pectisation* et est qualifié d'irréversible ; il s'est produit une transformation de la substance qui lui a fait perdre la propriété de se liquéfier au contact de certains liquides : c'est le résultat que l'on obtient en traitant l'albumine par les acides ou la chaleur.

Si la gélatinisation est poussée à l'extrême, le colloïde se trouve dispersé ; cette dispersion constitue la *peptonisation* et aboutit à la formation d'une suspension colloïdale ou sol.

Dans le cas où l'expérience porte sur la gélatine, si l'on fait agir sur le sol obtenu de l'alcool éthylique, on assiste à la formation d'un coagulum ou gel ; on a déterminé de la sorte la *coagulation* de la suspension ; contrairement à la pectisation, ce phénomène est réversible, car le coagulum suffisamment lavé est capable de fournir le liquide sirupeux initial. Au contraire, le sol de gélatine traité par la formaldéhyde produit aussi un coagulum mais qui a perdu la propriété de gélatinisation ; il se trouve de la sorte pectisé.

Ces faits amènent à constater que la notion de gel est particulièrement complexe et qu'il désigne des états de valeur physico-chimique fort différente.

Non seulement, les gelées sont pratiquement difficiles à différencier des gels, mais même ceux-ci, qui résultent tantôt de la coagulation tantôt de la pectination, sont peu faciles à identifier par les seuls moyens de l'observation microscopique, car ni gelées ni gels ne présentent le mouvement brownien.

En raison de l'importance que les solutions colloïdales présentent en Biologie, il importe d'insister sur leurs constantes physico-chimiques.

Je rappellerai tout d'abord que les suspensions colloïdales sont divisées en *suspensoides* et en *émulsoïdes*, suivant que la phase dispersée est solide ou liquide ; à cette classification toute

arbitraire, il y a lieu d'adjoindre leur division en suspensions hydrophiles ou lyophiles et en suspensions hydrophobes ou lyophobes ; aux émulsoïdes correspondent les hydrophiles peu sensibles à l'action des électrolytes et par conséquent peu coagulables ; aux suspensoïdes, les hydrophobes qui contrairement aux précédents sont très sensibles à l'action des sels. De façon générale les colloïdes organiques et les colloïdes minéraux (oxydes ou sels) fournissent des sols émulsoïdes, les métaux et les métalloïdes des sols suspensoïdes.

J'énumérerai rapidement les caractères généraux des suspensions colloïdales, actuellement bien connus, grâce aux nombreux travaux qui ont suivi la remarquable étude originale qu'en fit GRAHAM :

1° *Insolubilité de la phase solide dans le solvant.* La dissolution d'un solide dans un liquide, exigeant la diffusion du premier à l'état moléculaire dans le second, on conçoit que la polymérisation soit une entrave à la dissolution : L'aldéhyde C^2H^4O est entièrement soluble dans l'eau ; la paralaldéhyde $(C^2H^4O)^3$ l'est fort peu et la métaldéhyde ne l'est plus du tout (SPRING et DE BOECK, 1887).

2° *Lenteur de diffusion.* Un colloïde au contact d'un solvant pur ne le dissout qu'avec une extrême lenteur.

3° *Impossibilité de traverser les membranes dialysantes.*

4° *Tension superficielle en général diminuée par les colloïdes hydrophiles ;* l'action de la tension superficielle dans les solutions colloïdales présente toutefois des particularités que régit la loi de GIBBS : si une substance dissoute dans un liquide en abaisse la tension superficielle, la concentration de cette substance dans la couche superficielle sera plus grande que dans la masse du liquide et dans ce cas la variation de concentration superficielle est positive. Réciproquement, la variation de concentration superficielle est négative, si la substance dissoute élevant la tension superficielle du liquide, sa concentration dans la couche superficielle est moindre que dans la masse du liquide. Le cas de variation de concentration positive est réalisé par les solutions de certains acides organiques, d'alcools, d'éthers, d'amines et de savons alcalins, qui diminuent la tension superficielle de l'eau dans laquelle ils sont dissous. La tension superficielle peut dans certains cas diminuer à un tel

point, que pour certaines solutions colloïdales l'accumulation des particules dans la couche superficielle détermine l'apparition d'un gel pelliculaire (MEUNIER, 1924).

On conçoit l'importance de ce phénomène et l'utilisation qui peut en être faite en Biologie, en particulier dans l'explication de la formation des membranes cellulaires et des travées intra-protoplasmiques.

5° *Pouvoir osmotique faible*, ayant pour corollaires l'abaissement du point de congélation des colloïdes et l'augmentation de leur point d'ébullition, tous deux restant toutefois voisins des points de congélation ou d'ébullition du solvant pur.

6° *Abaissement de la tension de vapeur du solvant*.

7° *Augmentation de la viscosité*.

8° *Propriétés optiques spéciales*, diffusion et polarisation de la lumière, phénomène de KERR.

Quand l'hétérogénéité de la phase dispersée par rapport à celle du solvant est suffisante, les particules en suspension diffractent fortement la lumière et l'examen à l'ultra-microscope permet de constater qu'elles présentent le mouvement brownien. Si l'indice de réfraction des deux phases est sensiblement de même valeur, ce qui est le cas de beaucoup de liquides organiques, on conçoit que dans de telles conditions un hydrosol peut paraître optiquement vide bien qu'il soit constitué par de volumineuses micelles.

Le mouvement brownien, sur lequel j'aurai à revenir ultérieurement, n'appartient pas en propre aux colloïdes ; il représente un phénomène très général qu'on retrouve dans toute suspension finement granulaire et dont l'explication est fournie par la théorie cinétique des fluides.

9° *Conductibilité électrique faible et s'effectuant par un transport en masse d'un pôle à un autre*.

Quand une solution colloïdale est traversée par un courant électrique, les micelles se déplacent vers l'un des pôles ; ce phénomène désigné sous le nom d'électrophorèse — cataphorèse quand le déplacement a lieu vers la cathode et anaphorèse quand il a lieu vers l'anode — conduit à la notion de charge électrique des granules, en raison de la faiblesse de conductibilité électrique de la phase dispersée. Les théories de l'électrophorèse et certaines applications biologiques qu'elles compor-

tent, seront examinées dans un chapitre ultérieur ; il importe simplement de noter pour le moment, que les suspensions se répartissent en négatives et positives, suivant la nature de la charge électrique de leurs granules : quand la phase dispersée se dirige vers l'anode, le colloïde est dit négatif puisque tout se passe comme si les granules possèdent une charge négative ; si ceux-ci se transportent vers la cathode, le colloïde est appelé positif et l'on admet qu'ils sont chargés positivement.

Pour nombre de colloïdes hydrophiles, émulsioïdes naturels, albumine, gélatine et vraisemblablement pour les bio-colloïdes, la charge électrique des granules doit être très faible ; les électrolytes les influencent notablement. C'est ainsi que l'albumine est positive en milieu acide et négative en présence des alcalis ; elle rentre donc de ce fait dans la catégorie des Amphotères.

10° *Coagulation sous l'influence d'actions physiques diverses* : température, addition d'électrolytes, influences des radiations, etc.

11° *Propriétés chimiques spéciales et modifications spontanées sous l'influence du temps.*

Enfin, le rôle important que joue la surface spécifique des suspensions dans les phénomènes colloïdaux doit être signalé ; on sait que l'on désigne par surface spécifique des suspensions, le rapport de la surface totale des granules d'une suspension au volume total de ces granules, soit $\frac{S}{V}$. Dans un cas moyen où les granules ont des dimensions de l'ordre de 10 à 50 μ , S correspond à une surface de 150 à 300 mètres carrés, pour V, volume total d'un demi-centimètre cube de substance. On voit aisément avec quelle vitesse ces granules peuvent se gonfler ou se dégonfler sous l'influence du moindre changement de la tension superficielle.

CHAPITRE II

STRUCTURE DES BIO-COLLOIDES

Si l'on considère que les Protéines et en général, les colloïdes permanents, sont d'origine végétale ou animale, il semble

assez naturel de placer la matière vivante, elle-même, au nombre des substances colloïdales. Cette hypothèse émise pour la première fois en 1904 par GREELEY à la suite de ses études sur les Paramécies, fut reprise et vérifiée par HÖBER (1906), LOEB (1906) et MANN (1906), grâce aux renseignements fournis par la technique nouvelle de l'ultra-microscope.

GIDUKOW (1907 et 1910) généralisant les résultats d'observations portant sur les éléments cellulaires de certains végétaux, range le cytoplasma dans la catégorie des hydrosols.

Actuellement, la majorité des cytologistes — zoologues pour la plupart — professent une opinion différente mais aussi exclusive : le protoplasma est optiquement vide et se présente toujours à l'état d'hydrogels.

De toute façon, la structure colloïdale de la substance vivante est unanimement admise, mais cette théorie ne peut être considérée comme valable que si l'observation et l'expérimentation peuvent établir une identité parfaite entre les propriétés des substances bio-colloïdales et celles des colloïdes inertes ou synthétiques ; malheureusement de nombreuses lacunes s'opposent encore à cette superposition idéale. En ne s'en tenant qu'à la stricte observation sur le vivant, une telle vérification est loin d'être aisée ; aussi l'observateur doit-il éviter d'ajouter aux difficultés techniques qu'il doit vaincre, les obstacles subjectifs issus de préjugés théoriques et auxquels il faut imputer le peu de résultats dont la bio-mécanique a bénéficié dans l'application des propriétés colloïdales.

Le plus important de ces préjugés est celui qui se rattache aux notions qui concernent la dimension des micelles des bio-colloïdes.

On a vu précédemment que les variations de la surface spécifique des suspensions sont susceptibles de jouer un grand rôle dans les réactions qui s'opèrent au sein des substances colloïdales ; ces réactions se trouvent contingentées par le volume des granules de la phase dispersée ; il est particulièrement important de posséder des données précises sur la dimension des micelles bio-colloïdales.

Il est généralement admis qu'une certaine grosseur micellaire constitue un caractère exclusif et spécifique des suspensions colloïdales ; il est entendu que l'état colloïdal est subordonné aux

dimensions des corpuscules en suspension : ceux-ci ne doivent pas dépasser 100 $m\mu$, ni être plus petits que 5 $m\mu$; au-dessous de 5 $m\mu$ on se trouve en présence d'une solution vraie et au-dessus de 100 $m\mu$ il ne s'agit plus que d'une suspension grossière. La représentation schématique de ces faits peut se tracer de la façon suivante, d'après les tableaux d'OSTWALD et de von WEIMANN (MEUNIER, p. 15 et Wo. OSTWALD, p. 197) :

Granules $> 10^{-5}$ cm (0,1 μ) = suspension ou émulsion.

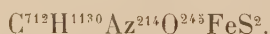
Granules $< 10^{-5}$ cm (de 0,1 μ à 5 $m\mu$) = suspension colloïdale.

Granules $< 5 \times 10^7$ cm (5 $m\mu$) = solution vraie.

Si cette classification a force de loi, il est logique d'attribuer aux micelles des colloïdes cytoplasmiques des dimensions inférieures ou tout au moins égales à 100 $m\mu$ et cette hypothèse, conforme aux idées classiques, asservit leur étude à l'utilisation de l'ultramicroscope ; elle n'est pas plus justifiée par la théorie que par les faits.

La Chimie de la substance vivante, malgré la précarité de ses résultats actuels, permet d'affirmer que le volume moléculaire des diverses substances constitutives du cytoplasma est si considérable que les micelles des bio-colloïdes doivent atteindre des dimensions de beaucoup supérieures à celles que leur assigne la théorie.

On sait depuis longtemps que les substances organiques ont un poids moléculaire élevé ; déjà PREYER en 1866 donnait pour formule de la molécule de l'hémoglobine : $C^{600}H^{960}Az^{154}Fe^1S^3O^{179}$; pour ZINOFFSKY (1885) elle serait encore plus élevée :



GRÜBLER (1891) attribue à l'albumine cristallisée des graines de courge $C^{292}H^{481}Az^{90}O^{82}S^2$. PEEFFER (1877) obtient pour diverses substances organiques les chiffres suivants :

Solution de gomme arabique : de 2.570 à 4.110, suivant le degré de concentration.

Glue : de 4.900 à 5.200.

Conglutine : 9.500.

POUR SABANAJEW et ALEXANDROW (1891) la méthode cryoscopique donne :

Albumine d'œufs : 14.270.

Amidon : 25.000.

Glycogène très pur : 140.000.

Caoutchouc : 6.504.

Caséine : de 1.400 à 2.000.

En ce qui concerne la constitution stéréo-chimique de la substance vivante, l'ignorance est presque absolue ; le peu que l'on sait est dû aux méthodes analytiques, en l'espèce illogiques puisque « l'analyse ne porte plus sur l'objet même qu'il s'agit d'analyser » (RABAUD) ; il semble néanmoins en résulter que la substance vivante est essentiellement constituée par des composés appartenant aux groupes des protéïdes ou matières albuminoïdes, des glucides ou matières sucrées et des lipides ou matières grasses (COMBES, 1927, p. 40). Il reste évident que rien ne prouve que ces substances extractives existent réellement dans la molécule protoplasmique.

Les protéïdes sont les plus compliqués de tous les composés organiques et l'on considère que leurs molécules sont constituées par la soudure d'un grand nombre de molécules d'acides aminés qui contiennent du carbone, de l'oxygène, de l'azote, du soufre, souvent du phosphore et parfois divers autres éléments.

« La synthèse sera seule capable de fournir ici des données vraiment utiles. Inaugurée par GRIMAUZ en 1884 ⁽¹⁾, reprise depuis sur une grande échelle par E. FISCHER et son école, elle consiste à combiner des acides aminés de manière à reconstituer des substances protéïques. FISCHER a reconnu qu'une molécule renfermant 20 molécules d'acides aminés est une molécule ayant certaines des propriétés physico-chimiques des albumines. Ce n'est pas encore de l'albumine vivante, mais les résultats obtenus permettent d'en prévoir la réalisation » (RABAUD).

Il résulte de ces données chimiques que, l'une des caracté-

⁽¹⁾ Ce chimiste a obtenu le premier, un colloïde azoté de synthèse, coagulant par l'action de la chaleur, comme l'albumine du blanc d'œuf. Il y est parvenu avec le colloïde amidobenzoïque préparé en chauffant ensemble l'acide amidobenzoïque avec du perchlorure de phosphore et lavant à l'eau bouillante le produit de la réaction. Il obtint ainsi une poudre blanche amorphe qui se gonfle dans l'ammoniaque puis s'y dissout peu à peu ; évaporée dans le vide, cette solution donne des plaques translucides, jaunes ou brunâtres ayant l'aspect de l'albumine du sérum et dont la solution présente de curieuses réactions. La plupart des acides, des sels, l'eau de chaux, l'eau de baryte, ajoutés en excès, y provoquent la formation d'un coagulum épais ; avec une quantité moindre de sels, elle ne coagule pas, mais elle devient coagulable par la chaleur. On peut même lui donner la proportion convenable de chlorure de sodium pour obtenir la coagulation à la même température que pour l'albumine (BARY, p. 8).

ristiques des protéines est la dimension considérable de leurs molécules, dimension due au grand nombre de molécules d'acides aminés qui la constituent (RABAUD, p. 28); cette grosseur n'a pas encore été déterminée exactement. De diverses évaluations anciennes, on avait conclu que le poids moléculaire de ces substances devait être compris entre 6.000 et 32.000; des déterminations plus récentes portant sur l'albumine d'œuf, la gélatine, les hémoglobines, etc. font considérer le chiffre de 66.000 comme plus vraisemblable (COMBES, 1927, p. 41, d'après ADAIR).

On entrevoit maintenant l'extrême complexité de la structure stéréo-chimique de la molécule protoplasmique : ses composants ne comprennent pas seulement des protéides mais encore des glucides, des lipides et parmi les 87 éléments simples actuellement connus, 34 ont été signalés dans la substance vivante.

Si conformément à un principe fondamental de la colloïdité l'on admet que l'élément irréductible de la phase dispersée ou micelle est multimoléculaire, on est logiquement autorisé à considérer que la micelle protoplasmique, en raison de l'énorme dimension des nombreuses molécules qui entrent dans sa constitution doit dépasser, ou tout au moins facilement atteindre, le chiffre de 100 $m\mu$ qui délimite théoriquement la dimension maxima des granules de la phase interne des pseudo-solutions.

Je rappellerai que la molécule d'hydrogène a pour diamètre $2,4 \times 10^{-8}$ cm. (MEUNIER, p. 15); PERRIN (1914) lui donne $2,1 \times 10^{-8}$; KOPACZEWSKI (1926) 0,08 $m\mu$. BOTAZZI (1923) attribue à la molécule d'eau 0,1 $m\mu$ et 5 $m\mu$ à celle de l'amidon soluble (d'après SZIGMONDY). Pour DELAGE (1913, p. 238) certains granules colloïdaux contiendraient 100^3 , soit un million de molécules, en supposant qu'elles fussent en contact.

Suivant les données fournies par le tableau d'OSTWALD, cette manière de voir serait susceptible d'exclure le protoplasma de la catégorie des substances colloïdales, pour le ranger parmi les vulgaires suspensions. Une telle classification micrométrique est discréditée par d'importants travaux : de même que LOEB a démontré qu'il n'existe point de barrières entre l'état colloïdal et les solutions vraies (qu'elles soient électrolytiques

ou non), ARRHENIUS (1911) a établi qu'on ne saurait édifier de mur chinois entre les dispersions et les dispersoïdes.

Quoi qu'il en soit on arrive à une conclusion capitale, celle de la possibilité que présentent les micelles protoplasmiques d'être microscopiquement visibles.

Les faits d'observation — sans parler de tous ceux que j'aurais l'occasion de décrire ultérieurement à propos d'examen pratiques *in vivo* — font perdre à cette affirmation toute allure paradoxale : Si l'on soumet aux grossissements limites de l'examen sur fond clair, l'un des nombreux colloïdes à « gros grains » à stabilité certaine et dont le Commerce a répandu l'emploi à des fins para-biologiques, on constate que contrairement à la théorie, le champ microscopique, loin d'être optiquement vide, est parsemé de nombreuses particules animées du mouvement brownien ; si nombre d'entre elles sont invisibles en raison de leur exiguïté qui les place au-dessous du *minimum separabile*, quelques-unes peuvent être repérées exactement, suivies dans tous leurs mouvements et décrites morphologiquement : elles affectent tantôt la forme linéaire ou en bâtonnet, tantôt elles sont groupées en chapelet. J'ai obtenu des résultats concordants avec les différents colloïdes suivants : arsenic, mercure, cuivre, manganèse, argent, or, fer ou électromartiol.

En supposant même, par concession démonstrative, que le volume des micelles protoplasmiques doive être ramené à celui des colloïdes à gros grains et à la dimension limite de 100 μ , il n'en demeure pas moins exact que l'examen des bio-colloïdes est justiciable des plus forts grossissements que fournit l'éclairage direct.

Dans leur ouvrage sur les ultramicroscopes, COTTON et MOUTON (1906) donnent la théorie de la limite de la visibilité des objets microscopiques, basée sur les travaux de HELMHOLTZ et de Lord RAYLEIGH. Ils établissent d'abord que pour que deux points d'un objet donnent des images distinctes, il est nécessaire que leur écartement ε soit au moins égal à $\frac{\lambda}{2 \sin \alpha}$, où λ est la longueur d'onde de la lumière dans le milieu où on opère et α l'angle que font les rayons émis par un point de l'objet, vers un point de la circonférence de l'objectif avec les rayons émis suivant l'axe. Cette limite ε est le point au-dessous duquel le microscope,

quel que soit son grossissement, est impuissant à fournir la forme d'un objet. L'expérience a montré que lorsqu'un objet est un peu plus petit que la longueur d'onde de la lumière, s'il a par exemple $0,4 \mu$, on ne reconnaît plus sa surface et l'on n'a aucun renseignement sur sa grandeur. Si les dimensions de l'objet diminuent encore un peu, il devient difficile ou même tout à fait impossible de le voir avec les meilleurs microscopes. La limite donnée par la formule précédente équivaut à $\varepsilon \geq \frac{\lambda}{3}$ soit environ $0,2 \mu$. Les microscopes que l'on possède sont à peu près à la limite de ce qu'il est possible d'obtenir avec ces instruments, du fait même de la qualité de la lumière. Cette valeur $0,2 \mu$ est également celle qui a été indiquée par I. STONEY (1903) pour la limite de visibilité microscopique.

Ces considérations théoriques n'ont toutefois de valeur qu'en ce qui concerne la limite de résolution de fins détails histologiques, car l'expérience montre que les corpuscules d'une suspension colloïdale, de diamètre inférieur à $0,1 \mu$, sont facilement perçus dans certains cas d'observation favorable et en particulier grâce aux phénomènes de diffraction déterminés par le mouvement brownien. De même, certains artifices d'éclairage tels que l'éclairage oblique (LANGERON, 1913, p. 73) et l'examen sur fond noir, permettent de reculer les frontières théoriques de la perception optique.

Loin de moi, la pensée que le seul mode d'examen au microscope ordinaire puisse suffire à acquérir une notion explicite et totale de la structure des bio-colloïdes ; il peut servir, cependant, à constituer une méthode d'investigation précieuse, d'autant moins négligeable qu'elle peut contribuer à la découverte d'un domaine presque totalement ignoré ; l'exploration des frontières est le prélude de la connaissance d'une région inconnue.

Si l'ultramicroscope a permis de réaliser de grands progrès dans l'étude des colloïdes artificiels, par contre, son application à la cytologie et à l'examen *in vivo* n'a que rarement fourni des renseignements décisifs et concluants ; sans parler de son maniement plein de difficultés et de son impuissance absolue à rendre le moindre service pour l'étude morphologique des substances étudiées, il est de plus susceptible de fausser les résultats d'observation.

La nécessité d'utiliser une source lumineuse de grande intensité (lampe de Nernst ou à arc) est de nature à apporter dans les protoplasmes ultra-sensibles, des modifications capables de déterminer des causes d'erreur. Cette action est même loin d'être négligeable pour les colloïdes artificiels : BILTZ (1913) et SIEDENTOPF (1910) ont étudié l'action des éclairages intenses des condensateurs cardioïdes sur différentes substances : en quelques minutes, une goutte de soufre colloïdal dans le sulfure de carbone, donne un précipité de soufre amorphe ; de même la liqueur de Fehling et le prussiate de sodium sont rapidement modifiés.

Il n'est pas superflu de déclarer que ces critiques ne concernent que l'emploi de l'ultramicroscope véritable, confondu trop fréquemment avec l'examen sur fond noir.



Fig. 1.

Les ultramicroscopes sont destinés à rendre visible les objets submicroscopiques, dont les dimensions sont au-dessous du pouvoir résolvant maximum des objectifs ; ils excluent toute étude morphologique. Quant à l'examen microscopique sur fond noir, qui s'effectue grâce à un dispositif optique beaucoup plus simple, il ne sert qu'à observer des objets déjà visibles au microscope ; il faut le considérer comme un auxiliaire de contrôle.

J'ai figuré ci-contre (fig. 1), suivant ses dimensions réelles, la projection, à la chambre claire, d'une portion d'échelle micrométrique examinée avec l'un des grossissements microscopiques que j'ai fréquemment employé (Stiassnie, oculaire compensateur 9, objectif homogène 1/15). On peut constater que le dixième de μ est facilement discernable. Des granules beaucoup plus petits peuvent être aperçus s'ils sont animés du mouvement brownien et d'autant mieux que leur indice de réfraction est plus différent du milieu.

En résumé, *chaque fois que l'unité physico-chimique d'un*

bio-colloïde possède des qualités qui la différencient optiquement du milieu intermicellaire, soit par le mouvement brownien, soit par son indice de réfraction, elle devient visible à l'éclairage direct et accessible aux investigations des grossissements limites du microscope ordinaire.

Partant de ce principe, je me propose d'exposer dans le chapitre suivant, quelques-uns des résultats, que la méthode qui en dérive permet d'obtenir au cours de l'examen du cytoplasma vivant d'un certain nombre d'organismes primitifs. Les observations que j'ai pu faire ont été enregistrées avec le seul souci de « regarder vivre » la cellule dans son milieu naturel et en faisant table rase de toutes les méthodes et théories cytologiques actuellement adoptées.

CHAPITRE III

MÉTHODE DE RECHERCHES

L'étude des propriétés fondamentales des bio-colloïdes implique la pratique d'observations effectuées exclusivement sur le vivant ; subordonnée à une méthode précise, elle ne doit pas être tributaire des hasards plus ou moins heureux de la recherche et celle-ci ne peut porter indistinctement sur n'importe quel organisme ou n'importe quel tissu, choisis à l'aventure.

Le matériel d'étude doit être recherché parmi les êtres à structure primitive, dont les cellules peu évoluées, présentent toutes réunies, les manifestations physico-chimiques qu'on est accoutumé d'appeler vitales ; les cellules très différenciées ou spécialisées, chez lesquelles une fonction semble hypertrophiée, s'en trouvent forcément exclues : hématies, leucocytes, cellules sexuelles telles que spermatozoïdes et ovules, spores et oogones, cellules contractiles, cellules nerveuses ou glandulaires, sont de ce nombre. Il en est de même des tissus dilacérés et examinés en milieu artificiel, en raison des perturbations que le traumatisme crée dans le protoplasma.

A la suite de l'examen de matériaux divers, puisés dans des

milieux très différents, j'ai été amené à donner le choix à certaines espèces d'algues ; on sait, au reste, que les *Spirogyres* constituent depuis longtemps un champ d'expérience favorable aux recherches cytologiques.

La transparence des parois des cellules algales, facilite singulièrement l'examen de leur cytoplasma ; l'étude des espèces est aisément faite dans leur milieu normal et grâce à quelques précautions élémentaires il est permis de prolonger l'observation et de suivre tous les stades de leur évolution.

Enfin, les Algues constituent un matériel abondant que l'on peut se procurer en toutes saisons.

Dans la méthode à utiliser, je dois signaler le rôle parfois important que doit y jouer la Systématique ; malgré le dédain qu'il est de bon ton de professer actuellement vis-à-vis de cette Science, il peut être utile de savoir s'abaisser à la dure discipline de la « détermination » ; c'est ainsi que l'anonymat qui enveloppe les espèces étudiées dans certains travaux, d'ailleurs pleins de mérite, leur enlève toute valeur scientifique.

Des espèces très voisines au point de vue morphologique, certaines *Desmidiées*, *Zyguemales*, *Oedogoniales*, etc., peuvent présenter des réactions physiologiques très différentes ; de sorte que tel phénomène observé chez une *Spirogyra* sp. ne sera pas retrouvé chez telle autre *Spirogyra* sp. ; les vacuoles accessoires ne se rencontrent que dans certaines espèces de *Closterium* et tout *Oedogonium* n'est pas favorable à l'observation du mouvement brownien.

La nécessité dans laquelle se trouve placé l'observateur de « voir vivre » la cellule dans des conditions identiques à celles où elle évolue dans la nature, exige quelques précautions et minuties d'observation sur lesquelles il n'y a pas lieu d'insister longuement : les algues seront fraîchement recueillies et observées dans l'eau où elles croissent ; on évitera tout traumatisme par compression excessive et on remédiera à l'asphyxie et à l'échauffement du protoplasma, en renouvelant fréquemment le liquide qui baigne les cellules.

L'examen se pratiquant entre lame et lamelle, à l'immersion, certains éléments cellulaires en apparence favorables à l'étude, ne peuvent être utilisés, en raison de leur trop grande épaisseur ; il en est ainsi de la plupart des *Siphonales* : constituées

par une masse protoplasmique unique, polynucléaire, la moindre pression extérieure y détermine des mouvements artificiels qui n'ont rien de commun avec ceux que le cytoplasme effectue spontanément.

Tout ce qui précède, implique le rejet absolu de l'emploi des colorants histologiques, sans en excepter ceux que l'on a qualifié de *vitaux*, en dépit de leur action mortifiante; ils apportent, pour la plupart, en raison des propriétés physico-chimiques que comporte leur nature colloïdale, de telles modifications dans l'édifice moléculaire des constituants cytoplasmiques que l'on ne peut y avoir recours sans risquer de fausser les résultats d'observation; ils ne doivent être utilisés que comme simples réactifs de contrôle ou d'expérimentation.

J'énumérerai ci-dessous les différents genres où se rencontrent les espèces les plus favorables à l'étude :

Heterocontæ : *Conferva*.

Zygnemales : *Spirogyra*, *Mougeotia*, *Sirogonium*.

Desmidiaceæ : *Closterium*, *Penium*, *Pleurotænium*, *Cosmarium*.

Chlorophyceæ : *Palmella*, *Tetraspora*, *Monostroma*, *Ulothrix*, *Stigeoclonium*, *Draparnaldia*, *Chætophora*, *OEdogonium*, *Bulbochæte*.

Siphonocladiales : *Cladophora*.

Siphonales : *Vaucheria*.

J'ai publié, en 1925, une liste d'Algues dans laquelle on trouvera les stations et la date de récolte des espèces que je viens d'énumérer et que j'ai utilisées au cours de ce travail.

Dans la partie purement descriptive qui va suivre, il est bien entendu que la terminologie employée n'a aucune portée préjudicielle en ce qui concerne la structure intime ou fonctionnelle des milieux considérés; les termes que j'utilise ne servent qu'à classer provisoirement des aspects optiques très souvent transitoires puisque « les diverses structures du protoplasma n'ont rien de fixe et se transforment l'une dans l'autre selon les états fonctionnels de la cellule » (PRENANT, 1904, p. 58).

J'entends par *cytoplasma* l'ensemble du contenu cellulaire à l'exclusion du noyau et des chloroplastes nettement différenciés.

Le *sol* est l'état de toute portion du cytoplasma présentant des corpuscules animés du mouvement brownien.

Le *gel* est l'état du cytoplasma optiquement vide.

Granules ou granulations : toutes les particules intracellulaires dont l'indice de réfraction, supérieur ou inférieur au milieu, permet de l'en différencier optiquement. Leurs dimensions sont de l'ordre du micron ou du sub-micron.

Je désigne sous le terme très général de *vacuoles*, des formations d'existence parfois très fugace, de dimensions très variables, représentées par des plages circulaires en coupe optique, ou polyédriques par pression réciproque et se différenciant du cytoplasma au sein duquel elles apparaissent, par leur différence de réfringence. Ces formations peuvent exister dans un gel aussi bien que dans un sol, être optiquement vides, présenter de rares granules ou constituer un sol caractéristique.

Mes observations sur fond noir ont été pratiquées grâce au dispositif fabriqué par F. KORISTKA de Milan ; cet appareil extrêmement pratique permet de passer instantanément de l'éclairage direct à l'éclairage à fond noir, sans modifier la mise au point de la préparation.

CHAPITRE IV

OBSERVATIONS

1. *Palmella miniata* Leibl. (Planche IX, fig. 1).

Cette Algue aérienne se rencontre sur divers substratums ombragés et humides, généralement au bas des vieux murs ; son thalle, de couleur rouge sombre rappelant celle du sang caillé, est diffus, de peu d'épaisseur et constitué par une masse muqueuse difficilement dilacérable, enrobant des cellules sphériques, isolées, d'un diamètre de 7 à 9 μ , souvent munies d'un pseudo-flagellum dont la base en forme d'entonnoir vient s'appliquer sur la membrane externe, tandis que l'extrémité se perd dans le milieu muqueux interstitiel (Pl. IX, fig. 1 f, A. B).

Les éléments cellulaires présentent au point de vue cytologique des aspects structuraux multiples, néanmoins réductibles à quelques types moyens ; dans tous les cas ils possèdent un

chromatophore unique, volumineux, accolé à la paroi externe, uniformément coloré en rouge carminé et muni d'une sphérule réfringente (pyrénoïde ?) ; cette masse chromatique, de forme lenticulaire, possède souvent des expansions périphériques qui lui donnent l'aspect étoilé (Pl. IX, fig. 1 A). Le noyau ne peut être différencié de la masse cytoplasmique par l'examen sur le vivant.

Dans le type qui répond à A, le cytoplasma est à l'état de gel total ; optiquement vide à l'examen sur fond noir, il ne présente à l'éclairage direct que quelques rares granules immobiles et de fines travées plus réfringentes qui rayonnent dans la masse.

Au type C, répond un début de vacuolisation ; de nombreuses trabécules morcellent le cytoplasma et quelques corpuscules animés du mouvement brownien y apparaissent.

En B, la vacuolisation est plus accentuée et les granules mobiles croissent en nombre. Le type D, montre la disparition totale des trabécules ; le protoplasma ne contient plus que des granules trépidants de dimension fort différente, allant de la limite de la visibilité jusqu'à $0,8 \mu$; l'amplitude et la rapidité de leur agitation sont d'autant plus grandes qu'ils sont plus petits.

Les colorants vitaux (rouge neutre, vert janus, bleu de cré-syl et bleu de méthylène) que j'ai employés dans le but de déceler l'existence de formations vacuolaires dans les cellules du stade A et D m'ont constamment fourni des résultats négatifs ; je crois légitime de considérer que l'aspect cytologique figuré en C est transitoire et que les vacuoles qui caractérisent ce stade sont nettement néoformées.

2. *Tetraspora lubrica* (Roth) Ag. (Pl. IX, fig. 2, 3, 4).

En coupe optique cette espèce offre l'aspect de masses muqueuses, hexagonales par pression réciproque et dont le diamètre varie de 20 à 25μ ; au centre de chacune d'elles se trouve une cellule souvent sphérique, de 9 à 10μ ; cette dimension est largement dépassée quand la cellule affecte une forme irrégulière. Le noyau est petit ; le chromatophore est pariétal, morcelé.

Durant la période végétative (fig. 2) le cytoplasma est entièrement hyalin et ne contient que de rares granules et de fines enclaves immobiles. Au fur et à mesure que la cellule s'ache-

mine vers la formation des tétrades, on voit apparaître le stade vacuolaire : ici les vacuoles recèlent quelques granules, quelquefois volumineux, animés du mouvement brownien avec ses caractéristiques habituelles (fig. 3).

Bien avant la première bipartition cellulaire, les vacuoles disparaissent (fig. 4) et tout le cytoplasme apparaît comme bourré de corpuscules mobiles. Cet aspect se poursuit bien après la séparation des cellules groupées en tétrades.

Je n'ai pu observer les modifications endo-cellulaires qui président à la formation des zoospores.

3. *Monostroma bullosum* (Roth) Wittrock. (Pl. IX, fig. 6, 5, 7).

Cette Algue d'eau douce offre la forme de larges expansions foliacées, boursoufflées et constituées par une seule strate de cellules.

Le même thalle permet de discerner suivant le stade d'évolution et l'âge des individus cellulaires la sériation des aspects structuraux suivants :

Fig. 6 : Cet aspect correspond au stade végétatif ; les cellules de forme irrégulière ont un diamètre moyen de $10\ \mu$; elles présentent un noyau central et un chromatophore unique et pariétal. La masse cytoplasmique entièrement homogène est à l'état de gel total.

Fig. 5 : Le cytoplasme présente un aspect vacuolaire et laisse percevoir quelques corpuscules mobiles.

Fig. 7 : A ce stade l'aspect vacuolaire a disparu ; toute la masse cytoplasmique, entièrement granuleuse, rend la perception du noyau difficile ; les corpuscules fort nombreux sont de dimensions fort variables et les plus volumineux atteignent $0,5\ \mu$; ceux-ci oscillent lentement sur place tandis que les plus petits présentent une agitation extrême.

Dans les états ultérieurs, les granules entrent en coalescence ; le mouvement vibratoire s'arrête et toute la masse cellulaire se transforme en une zoospore biciliée.

4. *Conferva bombycina* (Ag.) Wille (Pl. IX, fig. 8 A, B, C).

La cellule figurée en A, répond au stade végétatif de l'algue ; ses dimensions varient de $22\ \mu$ à $60\ \mu$; les parois longitudinales légèrement courbées donnent à l'ensemble de l'individu un

aspect légèrement toruleux ; les chloroleucites, au nombre de 10 à 15, plus ou moins nettement individualisés sont disposés contre la paroi, sous forme de plaquettes polyédriques. Les noyaux cellulaires sont difficilement décelables sur le vivant, à moins de recourir aux artifices de la coloration vitale.

Le cytoplasma ne laisse percevoir aucune forme structurale ; il est constitué par une masse homogène, sans vacuoles et présente de ci de là quelques granules immobiles indifféremment répartis.

L'examen sur fond noir montre que la cavité cellulaire est optiquement vide : il s'agit donc d'un gel.

La figure B répond à la période qui prélude à la formation des zoospores ; le cytoplasme a cessé d'être homogène et de nombreux corpuscules mobiles sont accumulés aux extrémités de la cellule ; ces corpuscules sont de grandeur différente : leurs dimensions s'étendent depuis la limite de la visibilité jusqu'à 0,6 μ .

A un stade plus avancé, C, la cellule affecte la forme de barillet allongé ; les chromatophores restent semblables à eux-mêmes, mais toute la cavité cellulaire est occupée par une myriade de corpuscules serrés les uns contre les autres, animés d'un mouvement désordonné, dont la rapidité rend impossible tout examen minutieux. A un stade ultérieur les granules s'agglutinent, leur mouvement s'arrête et l'on assiste à la constitution des spores.

5. *Spirogyra jugalis* (Dillw) Kütz. (Pl. IX, fig. 9).

Les cellules qui constituent le thalle de cette espèce sont fort volumineuses : leur diamètre transversal peut atteindre 120 μ .

Examiné au cours de la période végétative, le cytoplasme présente une assez grande complexité morphologique ; il comprend une zone périnucléaire continue, d'où rayonnent un grand nombre de travées plasmatiques, fréquemment ramifiées et dont chaque extrémité périphérique vient se fixer au niveau d'un chloroleucite. Immédiatement sous la paroi cellulaire, le cytoplasma est réparti suivant un réseau assez serré, constitué par de longues trainées, à direction généralement longitudinale, s'anastomosant de façon plus ou moins oblique.

Toutes les trabécules protoplasmiques, y compris la partie périnucléaire, sont constituées par une masse fondamentale réfringente où se trouvent répartis un grand nombre de corpuscules perpétuellement en mouvement; les plus volumineux ne semblent pas dépasser $0,3\ \mu$. Au niveau du réseau sous-cortical, le mouvement granulaire se présente sous l'aspect de courants de circulation superposés au mouvement moléculaire. Ces courants divaguent constamment et impriment aux trabécules d'incessantes modifications de forme comparables à celles des pseudopodes des Amibes. J'ai figuré (Pl. IX, fig. 10, 11, 12, 13) quatre aspects successifs présentés par un tractus protoplasmique, au cours d'une observation d'une durée d'environ dix minutes.

Le réseau plasmatique délimite de nombreux espaces occupés par une substance de nature indéterminée (suc vacuolaire des auteurs); ils contiennent des formations cristallines en forme de croix; ces cristaux plus particulièrement répartis le long des bandes chlorophylliennes et au voisinage du noyau manifestent de lents mouvements d'oscillation sur place.

6. *Spirogyra inflata* (Vaucher) Rab. (Pl. IX, fig. 14).

Dans cette espèce les cellules végétatives ne possèdent qu'une seule spire chlorophyllienne assez épaisse; le noyau est ovulaire et contient un gros nucléole.

Le cytoplasma se présente sous l'aspect d'un gel et les rares corpuscules qu'il contient sont immobiles.

Les cellules figurées sont sur le point d'entrer en conjugaison; les spires du chromatophore sont irrégulièrement tordues et parfois morcelées; le noyau n'est plus perceptible et la masse protoplasmique se trouve réduite à l'état de corpuscules dont les dimensions et la forme sont très variables; leur répartition est irrégulière: disposés en foyers ils sont particulièrement abondants au niveau de la lumière du tube de conjugaison; ils présentent tous l'agitation brownienne; le mouvement de translation surajouté est très fréquent et constitue dans certaines parties de la cellule une ébauche de cyclose.

La taille et l'isolement de certains granules en permettent le repérage précis; leur pointage à la chambre claire devient possible et rend réalisable le tracé de leurs mouvements en pro-

jection horizontale. Dans la figure 15, Pl. IX, j'ai figuré onze positions successives d'un granule de $2\ \mu\ 8$, notées de 30 en 30 secondes au cours d'une observation d'une durée de cinq minutes; de *b* à *g* on trouve différents trajets de corpuscules de $0,4\ \mu$; *b*, *d*, *f*, représentent les parcours effectués en 15 secondes; *g* en 45 secondes; *e* en 55 secondes et *c* en une minute.

7. *Spirogyra varians* (Hassall) Ktz (Pl. X, fig. 16, 17).

Les cellules végétatives (fig. 16), d'un diamètre de $30\ \mu$, possèdent une bande chlorophyllienne unique décrivant trois tours de spire; le noyau est pyramidal et son nucléole bien visible; de fines travées hyalines parcourent le cytoplasme, en rayonnant à partir de la région péri-nucléaire; on n'y trouve pas de granules mobiles.

Parmi les cellules qui ont participé à la conjugaison scalariforme, un certain nombre d'entre elles n'ont pas émis de tubes copulateurs, mais sont munies de phanères cylindriques ayant l'aspect de rhizoïdes (fig. 17). L'examen du protoplasma est ici particulièrement aisé. Le filament chromatique a conservé son aspect normal dans la plus grande partie de la cellule; le noyau est devenu fusiforme et son nucléole est nettement plus petit que celui que l'on rencontre dans les cellules végétatives.

Le cytoplasma a perdu toute texture définie et il est parsemé de nombreux corpuscules à mouvement brownien, dont l'agitation est plus particulièrement active au niveau de la lumière des pseudo-rhizoïdes. Aux alentours de la spire chlorophyllienne, il existe de fines trainées de granules browniens, affectant un mouvement de translation tantôt continu, tantôt discontinu.

8. *Spirogyra catenæformis* (Hassal) Kutz. (Pl. X, fig. 18).

Les filaments de cette Spirogyre se fragmentent fréquemment par groupes de 2, 3 ou 4 cellules; le morcellement peut aller jusqu'à l'unité. La conjugaison prend de ce fait une allure atypique que j'ai eu l'occasion de signaler antérieurement (LEBLOND, 1924).

Alors que la conjugaison scalariforme normale reste le propre des thalles non fragmentés, chez les cellules isolées ou groupées en petit nombre, les tubes de copulation apparaissent

fréquemment au niveau de la paroi transversale, ce qui donne lieu à la conjugaison bout à bout.

D'autres fois, un tube de conjugaison, émanant de l'extrémité libre d'un filament, vient s'unir à la paroi longitudinale d'un autre élément cellulaire ; il en résulte des aspects de conjugaison en L ou en T.

Au cours de cette reproduction aberrante, l'examen cytologique est singulièrement explicite ; la spire chlorophyllienne unique, presque transparente, n'occupe plus qu'une place très restreinte dans la cellule, dont le cytoplasma ne présente plus aucune forme structurale ; toute la cavité cellulaire est occupée par un sol, aux granules particulièrement abondants, surtout au niveau des tubes de conjugaison. Le mouvement brownien est constant pour chaque granule ; des mouvements de translation continue prédominent avec les parties périphériques du cytoplasme.

Les cellules à l'état végétatif répondent au type structural décrit dans les espèces précédentes et possèdent un cytoplasma à l'état de gel.

9. *Mougeotia scalaris* Hass. (Pl. X, fig. 20, 21, 22, 23).

J'ai récolté cette algue sur *Cladophora glomerata* ; elle y adhère grâce aux déformations brièvement digitées que présente la paroi de la cellule initiale du thalle (fig. 23). L'épaisseur cellulaire est de 30 μ et la longueur, comme chez presque toutes les Zygnémales, est extrêmement variable, non seulement d'un thalle à l'autre mais encore parmi les cellules du même filament. La membrane est lisse, non gélifiée et les cellules ont tendance à se séparer facilement les unes des autres. Le chromatophore axial, affecte la forme d'une bandelette aplatie ; il s'étend d'une cloison transversale à l'autre et présente souvent dans sa région moyenne deux encoches marginales ; il contient 3 ou 4 gros pyrénoides (fig. 22) à structure stratifiée ; on sait que cette bande chlorophyllienne est susceptible d'effectuer des mouvements de rotation de grande amplitude ; les figures 20, 21, 22, représentent les aspects qu'elle peut prendre successivement au cours de l'observation.

Le noyau très apparent, nettement homogène est accolé au filament chlorophyllien et contient un gros nucléole.

Au contact immédiat de la membrane cellulaire, on remarque en assez grand nombre, de gros corpuscules arrondis, réfringents, régulièrement espacés, d'une dimension de $0,5\ \mu$ environ et oscillant très lentement sur place.

On ne peut discerner dans la cavité cellulaire aucune trace de structure : ni tractus, ni vacuoles ne s'y révèlent ; elle présente toutefois de nombreux granules mobiles, extrêmement menus, particulièrement abondants au voisinage de la paroi externe de la cellule et aux alentours du chromatophore ; dans cette région, le mouvement brownien est particulièrement accentué et présente fréquemment un mouvement régulier d'entraînement, surajouté et dirigé dans la direction du grand axe de la cellule.



Fig. 2. — Structure schématique radiale d'une cellule de *Mougeotia scalaris*.

On observe souvent dans le cytoplasma, un volumineux corpuscule de forme irrégulière, pouvant atteindre $7\ \mu$; il oscille lentement sur place et se trouve toujours situé non loin d'une paroi verticale (c, fig. 22).

La figure 2, représente la structure schématique d'une cellule de *M. scalaris*, considérée suivant un plan perpendiculaire au grand axe et passant par le noyau.

La cellule basale ou de fixation (fig. 23), offre un chromatophore irrégulier, quelquefois fragmenté, ménageant de grands espaces transparents facilement accessibles à l'examen, qui devient particulièrement aisé au niveau des crampons de fixation ; les corpuscules mobiles y sont peu nombreux et répartis de façon diffuse.

10. *Mougeotia calcarea* (Clève) Witts (Pl. X, fig. 26 et 24).

L'aspect cytologique général des cellules de cette espèce est sensiblement le même que dans la précédente ; toutefois le diamètre n'est que de $11\ \mu$ et le chromatophore n'occupe plus toute la longueur de la cellule, ce qui facilite l'examen des deux régions extrêmes.

On observe, dans la répartition des granules mobiles, deux modes différents : dans le premier (fig. 26, A) ils sont assez uniformément disséminés, comme dans *M. scalaris* ; dans le

second (B) ils sont accumulés aux extrémités des cellules, mais cette polarisation est inégalement importante : la densité des corpuscules est de beaucoup plus forte à l'une des extrémités de la cellule.

Ces corpuscules sont à peu près d'égale dimension pour le même individu cellulaire, mais leur grosseur varie considérablement d'une cellule à l'autre ; ils présentent d'autre part des caractères cinétiques différents suivant leur taille : très petits en D, où ils sont à la limite de la visibilité, ils subissent un mouvement de déplacement en masse, surajouté au mouvement brownien ; plus volumineux en C, ils ne possèdent plus que l'agitation moléculaire dont l'amplitude et la rapidité est généralement en raison inverse de la grosseur ; en F, ils commencent à subir l'agglutination et ne présentent plus qu'un lent mouvement d'oscillation sur place ; enfin en E ils sont réunis en une masse irrégulière, complètement immobile. Le même filament présente, à peu de distance l'un de l'autre, des individus cellulaires à ces différents stades.

J'ai pu rencontrer au cours de l'étude de cette Espèce, un certain nombre de cellules en voie de division et suivre la formation de la cloison qui vient séparer les deux cellules nouvelles : La bi-partition de la bandelette chlorophyllienne s'opère tout d'abord par accroissement progressif de l'encôche médiane ; puis les granules uniformément répartis dans le cytoplasma effectuent un déplacement centripète qui les amène suivant le plan transversal correspondant à la ligne de séparation du chromatophore ; ils forment à ce niveau une sorte de barrière vibrante au sein de laquelle s'édifie la nouvelle paroi. La cloison longitudinale ne prend aucune part à ce phénomène (fig. 24).

Il y a peut-être lieu de rattacher l'aspect cytologique figuré en B fig. 26, dans lequel les granules sont concentrés au voisinage des cloisons transversales, au processus de division cellulaire que je viens de décrire et dont il constituerait un des stades consécutifs.

J'ajouterai que cette migration de la masse granulaire du cytoplasma est fort facile à déclancher expérimentalement.

Si l'on soumet à l'action des colorants vitaux et plus particulièrement à celle du rouge neutre un filament de *Mougeotia*

récolté au moment où les cellules sont à l'état de gel, on voit tout d'abord apparaître dans le cytoplasme des petits granules

innombrables, non colorés, agités par le mouvement moléculaire ; bientôt ils subissent une lente translation centrifuge qui les dirige peu à peu vers les cloisons transversales où ils ne tardent pas à constituer de volumineux granules sphériques immobiles. Cette expérience est réalisable avec toute espèce de *Mougeotia*.

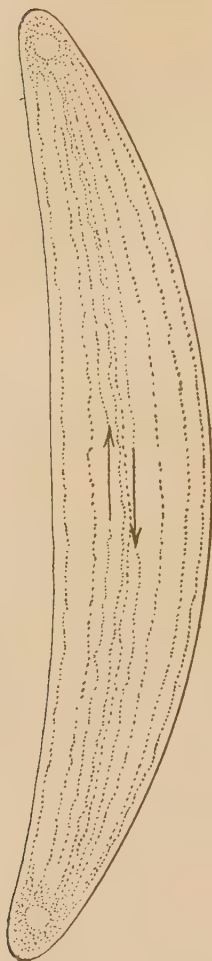


Fig. 3. — Représentation schématique des courants plasmatiques de *Closterium lunula*.

11. *Closterium lunula* (Mull.) Nitzsch. (Pl. X, fig. 27 et 28).

Il est inutile de rappeler ici les caractères spécifiques de cette algue très connue et j'aborderai de suite l'étude de son cytoplasma.

On constate, immédiatement en contact avec la membrane cellulaire, l'existence de nombreux corpuscules fort ténus, soumis à l'agitation brownienne, mais animés de plus d'un mouvement de translation longitudinale, qui détermine entre les deux vacuoles apexiennes des courants ininterrompus, le plus souvent parallèles et particulièrement localisés dans les rigoles longitudinales qui sillonnent le chromatophore (fig. 3).

Deux courants voisins peuvent circuler en sens inverse sans se mélanger. Parmi les corpuscules fort petits et peu différenciables les uns des autres, il s'en trouve d'autres plus volumineux, dont la vitesse de déplacement est plus faible.

Les courants granulaires aboutissent au voisinage des vacuoles à cristaux ; cette région, si l'on en excepte le système vacuolaire classique, ne présente aucune différenciation structurale et constitue une sorte de carrefour où les corpuscules subissent un brassage

intense avant de reprendre leur randonnée à travers la cellule.

Au niveau de l'isthme cellulaire, ou plan transversal qui réunit chaque demi-cellule, le chromatophore offre une solution de continuité qui facilite l'examen des régions profondes (Pl. X, fig. 27). Dans les cultures de l'Espece, il n'est pas rare de rencontrer des individus où l'écartement des bandes chlorophylliennes est suffisamment prononcé pour permettre l'observation du noyau.

Dans la région isthmique, on retrouve la même zone granulaire à mouvement cyclosique, mais dans la partie sous-jacente, apparaissent de petites plages, assez confuses dans leur contour, où, parmi les petits granules qui l'occupent, un assez grand nombre de corpuscules plus volumineux se remarquent, parce qu'ils sont uniquement animés du mouvement brownien (Pl. X, fig. 28).

Au delà, vers le noyau, apparaissent une série de vacuoles d'autant plus larges qu'elles en sont plus voisines.

Les grandes vacuoles para-nucléaires sont circonscrites par de fines travées protoplasmiques, sans structure, et dont la réfringence permet de les considérer comme étant à l'état de gel. Il en est de même des parois vacuolaires plus excentriques, mais celles-ci sont doublées de minces trainées de corpuscules à mouvement brownien affectant des mouvements de translation incoordonnée.

De façon générale, la cavité de ces vacuoles est vide de corpuscules; elle présente pourtant quelquefois de rares enclaves, constituées par des grains dont le volume peut atteindre $0,7 \mu$.

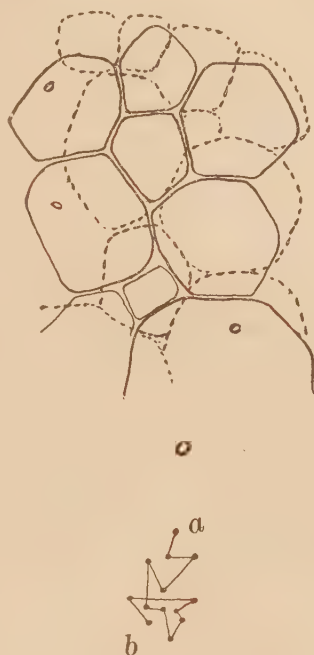


Fig. 4. — Tracé de la déformation que présentent les grandes vacuoles para-nucléaires de *Closterium lunula* au bout d'une observation de deux minutes.

De *a* à *b* le trajet décrit durant le même temps par un corpuscule de $0,7 \mu$ inclus dans l'une de ces vacuoles.

et qui sont particulièrement favorables à l'étude du mouvement brownien.

Il faut noter que les vacuoles se déforment incessamment, soit qu'elles se fusionnent à la façon des bulles de la mousse de savon, soit que leurs parois subissent d'amples mouvements de flottement ou d'ondulation ; on trouvera dans la fig. 4, dessinée à la chambre claire, la superposition de deux états successifs d'une partie de ce cytoplasme ; le tracé en pointillé a été effectué deux minutes après le tracé en trait plein.



A



B



C



D

Fig. 5.

Au cours des transformations incessantes que subit la portion vacuolaire de l'isthme de *C. lunula*, une vacuole périphérique peut quitter son aspect polyédrique, à la suite de la rétraction ou de la rupture des trabécules voisines, pour prendre l'aspect sphérulaire (fig. 5, A) ; devenue indépendante, cette sphérule vacuolisée peut venir frôler l'un des courants plasmatiques longitudinaux ; elle se trouve bousculée, entraînée dans un sens, tantôt dans un autre, tourne sur elle-même, puis brusquement se fusionne avec la masse fluante ; il en résulte d'abord une tuméfaction où les vacuoles sont encore perceptibles (B) ;

celles-ci ne tardent pas à disparaître (C) et la résorption est bientôt totale (D).

Si une sphérule vacuolaire contient l'un des volumineux corpuscules signalés plus haut, il appartient dorénavant à la masse des courants longitudinaux et se trouve fatalement dirigé vers le carrefour apexien ; contrairement à ce qui se passe pour les très fins granules, il n'est pas repris par un courant centripète ; parfois longuement balotté, il finit par pénétrer dans la vacuole à cristaux auxquels il vient se réunir et dont il n'est pas possible de le différencier (fig. 6).

Cette observation constitue un document susceptible de servir dans l'étude de la formation et de l'évolution des enclaves cristallines que l'on rencontre dans les vacuoles de nombreuses *Closteries*.

Suivant certaines conditions favorables d'examen, qui paraissent coïncider avec le stade prémonitoire de la conjugaison, on assiste, au niveau de la région apexienne à un phénomène dont la signification biologique est importante.

Au sein de la masse granulaire, les corpuscules s'écartent progressivement les uns des autres pour délimiter une minuscule vacuole transparente qui s'accroît assez rapidement. Dans son voisinage immédiat d'autres formations identiques éclosent successivement et ne tardent pas à entrer en coalescence pour constituer une vacuole unique dont le diamètre atteint finalement $6\ \mu$ environ ; au bout d'un laps de temps qui ne dépasse guère dix minutes, celle-ci entre en contact avec la vacuole à cristaux et s'y fusionne brusquement à la façon de deux gouttelettes d'eau que l'on met en présence. La formation et la disparition de ces vacuoles accessoires n'obéit à aucun rythme régulier (Voir fig. 7, A, B, C).

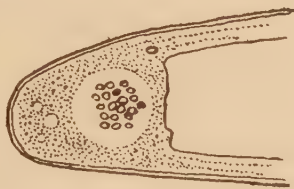


Fig. 6.

J'aurai l'occasion de revenir ultérieurement sur la signification cytologique de ce phénomène sur lequel j'ai du reste attiré antérieurement l'attention (LEBLOND, 1928).

12. *Cosmarium Botrytis* Meneg. (Pl. X, fig. 25, d.).

Cette espèce présente de façon constante, au centre de chaque demi-cellule, une région plus ou moins sphérique dans laquelle s'agitent un grand nombre de corpuscules assez volumineux, (un peu plus de $1\ \mu$).

A différentes reprises, j'ai rencontré des individus chez lesquels il était possible d'observer, entre les deux foyers habituels A et E, d'autres agglomérations granulaires réparties suivant trois plans : 1, 2, 3, 4, 5, 6 représentent les foyers antérieurs ; A, B, C, D, E, F les foyers moyens et a, b les postérieurs (Il est bien entendu que cette algue ne possède ni face inférieure

ni face postérieure et qu'il ne s'agit ici que d'une formule de description microscopique).

En réalité les corpuscules observés ne sont pas confinés dans des limites aussi étroites que le représente la figure; le cytoplasme est dans son ensemble à l'état granulaire et offre des condensations comparables à celles que l'on a rencontré dans *Spirogyra inflata* (Pl. IX, fig. 14).

13. *OEdogonium* sp. (Pl. X, fig. 25, a).

Cette algue, épiphyte sur *Cladophora glomerata*, est constituée par cinq cellules; elle représente le stade embryonnaire d'une espèce qu'il m'a été impossible de déterminer, car je n'ai pu l'amener jusqu'à la fructification.

Les chromatophores des cellules de cette plantule sont disposés sous la forme d'un manchon sous-pariétal, discontinu. Le noyau est volumineux et périphérique. Le cytoplasme ne présente aucune trace d'organisation et toute la cavité cellulaire est occupée par un grand nombre de granules de très faible dimension, impossible à différencier les uns des autres et affectant un mouvement brownien extrêmement rapide.

14. *OEdogonium undulatum* A. Br. (Pl. X, fig. 25, c).

La cellule qui sert de support à l'oogonie est parcourue par de longues travées chlorophylliennes, sous-pariétales, formées de petits chloroplastes allongés, discontinus, à nombreux pyrénoides. Le noyau sphérique est accolé à la paroi. Comme dans l'espèce précédente le cytoplasma est sans structure apparente et réduit à l'état de fins granules mobiles.

15. *OEdogonium Braunii* Kützing (Pl. X, fig. 25, b).

Dans cette espèce, les cellules en contact avec les oogones présentent un chromatophore très réduit: il n'est représenté que par quelques grains chlorophylliens; le noyau est impossible à déceler. La cavité cellulaire ne recèle que de nombreux corpusculés mobiles.

16. *Draparnaldia glomerata* (Vauch.) Agardh (Pl. X, fig. 19).

Dans cette espèce, les expansions périphériques du chromatophore sont prolongées par des tractus cytoplasmiques hya-

lins, rarement anastomosés, et orientés longitudinalement vers les parois transversales. Les cellules des poils pluricellulaires qui terminent les filaments périphériques sont dépourvus de chlorophylle et ne présentent à l'observation qu'un petit noyau central d'où émanent de fines travées linéaires, sans structure apparente.

Ces états ne sont pas permanents : suivant certaines conditions physiologiques, encore imprécises, les tractus cytoplasmiques hyalins et à l'ordinaire optiquement vides, passent à l'état granulaire et laissent percevoir d'abondants granules mobiles ; ces modifications structurales sont fréquemment réversibles.

CHAPITRE V

LE MOUVEMENT BROWNIEN DANS LA CELLULE VIVANTE

Le cytoplasma de chacune des espèces algales passées en revue au cours des descriptions cytologiques qui précèdent, présente un état granulaire constitué fréquemment par *des corpuscules mobiles*. Tantôt uniformément répartis dans toute la cavité cellulaire, tantôt localisés ; y figurant d'une façon constante ou n'y apparaissant que suivant un rythme qui semble dépendre de l'activité fonctionnelle ou évolutive des individus, ces corpuscules en raison de l'aspect structural et dynamique qu'ils impriment au cytoplasma doivent retenir l'attention.

Je ne m'occuperai pas ici de leur structure intime ou de la nature de leur constitution chimique : l'examen sur le vivant est incapable de fournir les données nécessaires à la solution des multiples problèmes qui se posent à ce propos.

Avant d'étudier leurs caractères morphologiques (forme, dimension, etc.) et de discuter leur valeur biologique, j'examinerai tout d'abord la nature de leurs manifestations cinétiques.

L'agitation qu'ils manifestent est passive et se réduit en général à un mouvement de trépidation sur place, d'autant plus lent que les corpuscules sont plus gros ; ses caractères permettent de l'identifier avec le mouvement brownien.

La translation continue rencontrée chez les *Clostréries* ou la

translation discontinue fréquente chez les *Sporogyres* et les *Mougeotia*, qui vient parfois se surajouter à l'agitation sur place des granules et tend à les déplacer dans un sens défini, constitue une motilité secondaire dont le mécanisme et la signification seront envisagés plus loin.

Le mouvement brownien, loin de se rencontrer exclusivement chez les corpuscules de certaines cellules vivantes, n'est que la manifestation d'un phénomène physique actuellement bien expliqué ; il fut décrit pour la première fois, en 1827 par R. BROWN, dans un travail dont il n'est pas superflu de transcrire ici les passages essentiels :

« Les observations ont été faites avec un microscope simple et avec une seule et même lentille de $1/32$ pouce sur le pollen de *Clarkia pulchella*. Les grains de pollen pris dans les anthères complètement développées, mais avant leur déhiscence étaient remplis de particules ou granules d'une grandeur peu ordinaire, qui variaient de près de $1/4000$ à environ $1/5000$ de pouce en longueur et dont la forme était intermédiaire entre la cylindrique et l'oblongue, peut-être légèrement aplatie et ayant des extrémités arrondies ou égales... j'observais que plusieurs de ces particules étaient évidemment en mouvement ; ... ces mouvements appartenaient à la particule elle-même ... Des grains de pollen pris immédiatement après leur déhiscence contenaient des particules cylindriques semblables en plus petit nombre cependant et mêlées avec d'autres particules au moins aussi nombreuses, d'une plus petite taille, et qui étaient doués de mouvements oscillatoires très vifs.

Les mêmes observations sont faites chez les *Onagraires* et diverses espèces d'*Oenothera*. Chez les *Graminées* les mouvements des plus grosses particules étaient distinctement visibles dans l'intérieur du grain entier.

Le phénomène se retrouve chez les *Asclepiadées*, *Periplocées*, quelques *Apocinées* et les *Orchidées*. Ayant observé les mouvements dans les particules du pollen de toutes les plantes que j'avais examinées je fus conduit ensuite à rechercher si cette propriété continuait après la mort de la plante et pendant combien de temps elle persistait... Dans les plantes, soit sèches, soit trempées dans l'esprit de vin pendant quelques jours seulement, les particules du pollen présentent des mouvements

aussi évidents que ceux qu'on observe dans les plantes vivantes. Des plantes en herbier depuis vingt ans et d'autres depuis cent ans au moins présentaient encore les molécules ou les plus petites particules sphériques en nombre considérable et doués de mouvements évidents, mêlées avec quelques particules plus grandes dont les mouvements étaient beaucoup moins visibles et ne pouvaient même être aperçus dans quelques cas. Les particules de *Viola tricolor*, *Zizania aquatica* et de *Zea mais* plongés durant onze mois dans l'esprit de vin faible, présentent encore des mouvements bien qu'un peu moins vifs que ceux des particules vivantes.

Réfléchissant alors sur tous les faits que je connaissais je fus disposé à croire que les petites particules sphériques ou molécules de grandeur uniforme, en apparence, que j'avais vues dans l'état avancé du pollen des *Onagraires* et de la plupart des autres plantes Phanérogames, ensuite dans l'anthère des mousses et sur la surface des corps regardés comme les étamines des *Equisetum*, et enfin en écrasant des portions d'autres parties de ces mêmes plantes, étaient en réalité les molécules élémentaires ou constituantes des corps organiques d'abord considérées comme telles par BUFFON et NEEDHAM, ensuite avec plus de précision par WRISBERG, bientôt après et d'une manière encore plus spéciale par MÜLLER et très récemment par le Dr MILNE-EDWARDS qui a remis en vigueur cette doctrine et qui l'a soutenue par des détails très intéressants. J'espérais par conséquent trouver ces molécules dans tous les corps organisés ; et en effet en examinant les divers tissus animaux ou végétaux, vivants ou morts, je trouvai qu'elles existaient toujours ;... ».

Passant ensuite à l'examen de multiples substances inorganisées BROWN retrouve les mêmes corpuscules animés, ce qui l'amène à cette conclusion : « Je suis en général disposé à croire que les molécules simples sont d'une taille uniforme de $1/15.000$ à $1/20.000$ de pouce ... Je ne hasarderai aucune conjecture quelle qu'elle soit concernant ces molécules qui paraissent être d'une existence si générale tant dans les corps inorganisés que dans les corps organisés ».

En raison de sa nature purement physique, les cytologistes qui eurent ultérieurement l'occasion de retrouver le mouvement

brownien intra-cellulaire, le passèrent longtemps sous silence. STRASBÜRGER qui l'observa dans les granules d'un latex, déclare qu'il n'est lié à aucune manifestation vitale. A. GAUTIER décrit, au sein du protoplasma en mouvement, de petits granules qui se déplacent plus ou moins rapidement; puis, Raphaël DUBOIS signale les mouvements indépendants et oscillatoires des granulations protoplasmiques et émet l'hypothèse qu'il s'agit peut-être là d'un mouvement différent du mouvement brownien. P. CARNOT constate que certains granules pigmentaires affectent des mouvements très rapides qui d'après lui seraient purement passifs.

GIARD, PIZON, font des observations analogues. LAUTERBORN découvre que les corpuscules métachromatiques inclus dans les vacuoles des Diatomées sont animés du mouvement brownien; JENSENS fait la même constatation dans le noyau vacuolisé des levures, au début de la fermentation et ERNST dans les grains sporogènes des bactéries.

Enfin, J. CHIFFLOT et Claude GAUTIER en 1905, à la suite d'observations portant sur certaines plantes aquatiques : *Azolla Caroliana*, *Closterium*, *Cosmarium* et *Spirogyres* arrivent à la conclusion générale « qu'il existe assez fréquemment des granulations cytoplasmiques animées du mouvement brownien, lié indirectement à la vie du protoplasma, mais directement à sa constitution physique et à son état d'hydratation ».

Ce travail, remarquable pour l'époque, après avoir été l'objet d'une critique pour le moins très partielle de la part de P. ABRIC (1905) passa totalement inaperçu.

Peu après, GAÏDAKOFF en 1907, grâce à l'utilisation de la découverte récente de la technique de l'ultramicroscope, constate l'existence, dans de nombreuses cellules végétales, de corpuscules brillants, animés du mouvement brownien; ses observations le conduisent à considérer que le cytoplasma est un sol colloïdal.

Il y a lieu d'examiner maintenant, si le mouvement de trépidation sur place que peuvent présenter les granules intra-cellulaires dépend réellement de l'agitation moléculaire. Les faits confirment amplement cette hypothèse; le mouvement qui anime les corpuscules correspond en tous points à la description classique et définitive du mouvement brownien telle qu'elle

a été donnée en 1888 par GOUY et est entièrement comparable au mouvement micellaire que l'on observe dans ces hydrosols colloïdaux artificiels.

Le mouvement brownien présente les caractères suivants :

1° *Irrégularité du mouvement, soumis à la loi du hasard* (LAPLACE et GAUSS). — L'agitation n'est coordonnée ni dans le sens horizontal ni dans le sens vertical ; chaque particule est absolument indépendante ; sa trajectoire est sans cesse interrompue par des changements de vitesse et de direction et il est possible de lui appliquer la loi d'irrégularité de MAXWELL ; on peut calculer son déplacement total pendant un temps donné par sa projection sur un axe.

Mes schémas de projection effectués sur les cellules de *Spirogyra inflata* (Pl. IX, fig. 13) sont superposables à ceux de PERRIN (1914).

2° *Influence de la grosseur des grains*. — Il existe un rapport étroit entre la taille et le mouvement ; les grosses granulations se meuvent beaucoup plus lentement que celles qui se trouvent à la limite de visibilité.

Mes pointages confirment la loi ; tandis que les gros corpuscules de près de 3 μ , oscillent lentement sur place (a) ceux dont les dimensions sont beaucoup plus petites présentent une extrême vivacité (b à g).

3° *Mouvement de rotation des grains sur eux-mêmes*. — La vérification de cette loi ne peut être faite que sur des grains volumineux et irréguliers (J. PERRIN, 1914).

Les croix cristallines de *Spirogyra jugalis* (Pl. IX, fig. 9), les volumineux granules de *Mougeotia scalaris* (Pl. X, c, fig. 22) et les masses agglutinées de *Mougeotia calcarea* (Pl. X, fig. 26, F) présentent très nettement le phénomène de rotation sur place.

4° *Influence de la viscosité*. — L'augmentation de la viscosité du solvant diminue l'amplitude du mouvement et sa vitesse, l'impulsion cinétique restant la même.

En déshydratant lentement une cellule, dans laquelle le mouvement brownien est manifestement très rapide, on observe

le ralentissement progressif du mouvement granulaire ; cette expérience est facilement réalisable par l'emploi de la glycérine diluée.

Les cellules de *Conferva bombycina* où le mouvement est le plus intense (Pl. IX, C, fig. 8) sont celles qui ont pris l'aspect toruleux ; il est logique d'admettre que dans ce cas, le cytoplasma fortement imbibé d'eau, présente une viscosité moins grande.

5° *Influence de la température.* — Un accroissement de température augmente l'énergie cinétique des granules et influence la viscosité. Ce principe que je n'ai pu vérifier expérimentalement sera pourtant incidemment démontré, dans la cellule vivante, à propos des mouvements de cyclose.

6° *Ebranlements du sol.* — Ils n'affectent nullement le phénomène ; les ébranlements imprimés à la platine du microscope ne modifient en aucune façon le mouvement des corpuscules.

7° *Transport électrique.* — J'aurai l'occasion de démontrer un peu plus loin que les corpuscules intra-protoplasmiques agités du mouvement brownien, possèdent cette propriété qui joue un rôle capital dans l'explication des mouvements en masse du cytoplasme.

CHAPITRE VI

MUTATIONS DES ÉTATS COLLOIDaux DANS LE CYTOPLASME

Le Passage du gel au sol et sa signification biologique.

La nature du mouvement élémentaire manifesté par les granules intracellulaires étant élucidée et pouvant être rapportée au mouvement brownien, il reste à déterminer quelle place ces granules occupent eux-mêmes dans le cytoplasma et quelle valeur ils possèdent au point de vue biologique.

Les conditions d'observation que je me suis efforcé de réaliser

au cours de mes recherches, permettent d'éliminer, de prime abord, l'hypothèse qui consiste à considérer les formations granulaires que j'ai décrites, comme le résultat de phénomènes de mortification cellulaire. J'ai pu avec une égale fréquence, constater la transformation d'un cytoplasma optiquement vide en cytoplasma granuleux et la réversibilité de ce phénomène.

Il est à peine besoin de dire qu'il ne peut être ici question d'infection microbienne, au cours de laquelle la pullulation de microorganismes viendrait donner au cytoplasma l'apparence granulaire ni de zoospores de parasites intracellulaires tels que les *Chytridinées*.

En opposition avec la théorie de GAIDUKOW, cytologistes et histologistes, à la suite des travaux de MEYER et SCHÖFFER (1908) s'efforcent actuellement à rendre classique la notion que la substance protoplasmique fondamentale est un hydrogel fluide, optiquement vide et que les granules brillants que l'on y observe ne sont animés du mouvement brownien qu'au cours de certaines altérations ; que de toute façon ils sont extra-protoplasmiques, soit qu'ils constituent des enclaves ou des organules élémentaires, soit qu'ils appartiennent aux corpuscules intravacuolaires.

Mes observations ne permettent pas de souscrire à cette théorie qui néglige un caractère fort important des colloïdes : leur état de perpétuel devenir et leur essentielle mutabilité. Prétendre que les bio-colloïdes doivent toujours se manifester à notre observation sous un des seuls aspects physiques qu'ils sont susceptibles de présenter ; les considérer comme constamment figés sous forme de gel, au milieu des perpétuelles variations du chimisme cellulaire et malgré l'action des multiples électrolytes qui les traversent incessamment, est aussi illogique que de vouloir maintenir, *in vitro*, immuablement à l'état de gel, un colloïde d'alumine mis en contact avec l'un des multiples réactifs qui doivent le disperser.

Si l'on se reporte aux descriptions cytologiques rapportées précédemment, on est amené à considérer que le mode d'apparition des granules mobiles dans la cavité cellulaire, la place qu'ils y occupent quantitativement, leur fréquence à l'occasion d'états fonctionnels particuliers ou suivant certaines phases évolutives et enfin la constance même de leur présence chez

certaines espèces, ne peuvent les laisser confondre ou identifier avec des productions érratiques (enclaves, plastes, etc.), en tout cas étrangères au cytoplasma; il y a tout lieu, au contraire, de les considérer comme appartenant à ses constituants normaux.

On peut constater que dans *Palmella miniata* (Pl. IX, fig. 1, D), dans *Tetraspora lubrica* (Pl. IX, fig. 4), dans *Monostroma bulbosum* (Pl. IX, fig. 7), la masse cytoplasmique passe en totalité à l'état granulaire; cette transformation est à la vérité précédée d'un aspect vacuolaire susceptible de donner matière à discussions; mais chez *Conferva bombycina* (Pl. IX, fig. 8, C), chez *Mougeotia scalaris* et *M. calcarea* (Pl. X), ce stade intermédiaire ne se rencontre pas; je ne l'ai pas retrouvé davantage chez *OEdogonium Braunii* et *O. undulatum* (Pl. X). Chez *Spirogyra jugalis*, c'est à l'intérieur des travées protoplasmiques elles-mêmes qu'apparaissent les corpuscules et ils participent aux mouvements d'ensemble qu'elles manifestent.

Chez *Closterium lunula* (Pl. X, fig. 27 et 28) on peut constater qu'ils sont nettement intraprotoplasmiques.

Enfin l'examen de *Spirogyra jugalis* (Pl. IX, fig. 9) est de nature à lever tous les doutes; on y voit que la masse intervaluolaire, bourrée de granules, peut au cours des divers mouvements de flottement qu'elle présente, repasser à l'état totalement hyalin.

On a prétendu qu'une observation n'a de valeur qu'à la condition de pouvoir être vérifiée par l'expérience; or l'expérimentation permet de déterminer artificiellement la formation des granules à mouvement brownien, aux dépens d'un cytoplasma primitivement homogène.

Certaines solutions électrolytiques, en agissant sur les cellules de *Spirogyres*, ont le pouvoir d'en modifier l'équilibre colloïdal; nombre de substances possèdent cette propriété: les solutions de sels métalliques et la plupart des colorants vitaux. mais l'influence mortifiante que ces corps exercent sur la cellule, rend leur utilisation expérimentale peu probante et suspecte, dans l'étude comparative des résultats obtenus et des phénomènes naturels; si, au contraire, comme j'ai eu l'occasion de l'indiquer dans une note antérieure (1928), on a recours à une solution faible de caféine à 1 p. 1000, base faible, dont

le $P_H = 6,8$, les algues prudemment traitées par cet alcaloïde ne subissent que des perturbations passagères, reprennent rapidement tous leurs caractères primitifs d'organisation et replacées dans leur milieu normal, continuent à végéter et à évoluer normalement. En faisant agir la solution de caféine sur un filament de *Spirogyra* sp. dont les cellules sont choisies à l'état de gel, on assiste à la rapide transformation granulaire de la totalité du cytoplasme. Ce phénomène est lentement réversible ; si l'algue est replacée dans ses conditions biologiques primitives on constate que le cytoplasma perd peu à peu l'aspect granulaire et reprend finalement l'aspect homogène.

Appliquant à ces différents faits le principe que j'ai énoncé précédemment à propos de l'étude des dimensions de l'unité granulaire des bio-colloïdes et en les comparant aux manifestations optiques des hydrosols, on parvient, à la conclusion suivante : *la plupart des corpuscules mobiles observés dans le cytoplasma des diverses espèces étudiées sont des micelles d'hydrosols protoplasmiques.*

Il est implicitement entendu que tous les granules observés ne font pas strictement partie du protoplasma et qu'il peut s'y trouver mélangées des particules de substances de nature ou de structure très différenciées : huiles, graisses, gaz, cristaux, pigments, plastes, etc.).

Cette notion conduit à une autre déduction : *Ce cytoplasma est tantôt à l'état d'hydrosol, tantôt à l'état d'hydrogel ; ces deux états peuvent même se rencontrer simultanément dans le même individu cellulaire.*

Si l'on se reporte à mes observations, on constate que, quelle que soit l'espèce étudiée, aucun des deux états sous lesquels peuvent se présenter les solutions bio-colloïdales (gel ou sol) ne se rencontre de façon permanente dans la cellule, mais que leur alternance est la règle et que leur simultanéité est loin d'être rare. Chez *Palmella miniata*, *Monostroma bullosum*, algues composées d'éléments unicellulaires morphologiquement identiques et d'égale valeur fonctionnelle, la structure du cytoplasma diffère suivant les régions du thalle considérées ; l'aspect le plus fréquent est celui d'un gel.

Au niveau d'autres îlots cellulaires, toute texture cytoplasmique a disparu, pour faire place à un sol caractéristique.

Ces deux états opposés, sont réunis par de nombreux stades intermédiaires. Les mêmes faits se rencontrent chez *Conserva bombycina* (Pl. IX, fig. 8), *Oedogonium Braunii* et *O. undulatum* (Pl. X, fig. 25, *b* et *c*).

Chez les *Conjuguées*, le cytoplasma se présente habituellement dans les cellules végétatives sous l'état d'un gel, parcouru par des travées réfringentes ; à certains moments de l'évolution individuelle, les trabécules cytoplasmiques se résolvent en fines granulations et peu à peu, toute la masse intracellulaire (chromatophores et système nucléaire exceptés) se transforme en hydrosol. Le passage des tractus cytoplasmiques, primitivement optiquement vides à l'état granulaire se remarque également dans *Draparnaldia glomerata* (Pl. X, fig. 19).

J'attirerai l'attention sur la coexistence fréquente de l'aspect homogène (état de gel) et de l'aspect granulaire (état de sol) dans la même cellule, chez certaines *Spirogyres* et *Clostéries*.

En résumé : hydrosols et hydrogels ne sont plus à opposer dans la cellule vivante ; ces deux aspects d'un même bio-colloïde ne constituent pas deux catégories génériques et exclusives ; ils sont bien plutôt des états transitoires et alternants du cytoplasma, répondant à des stades fonctionnels ou évolutifs de la cellule.

Cette conception que j'ai émise pour la première fois en 1919, s'est trouvée vérifiée d'autre part et reprise par BAYLISS (1920), LEWIS (1923) et PENSA (1923) ; CHAMBERS (1925) de son côté, semble l'admettre mais avec réserves.

L'alternance de l'état de gel et de l'état de sol, se trouve conditionnée par l'activité biologique de la cellule.

En règle générale, la transformation en sol ne se produit qu'au moment où la cellule passe de la période purement végétative, à l'une des périodes d'activité fonctionnelle qui caractérisent l'accroissement, la division, la reproduction sexuée ou asexuée.

Accroissement. — Chez de très jeunes exemplaires d'*Oedogonium* sp. composés de quelques éléments cellulaires, le cytoplasma est entièrement à l'état de sol (Pl. X, fig. 25, *a*).

Division. — Chez *Tetraspora lubrica*, les cellules en voie de division sont bourrées de grains mobiles (Pl. IX, fig. 4) ; *Mou-*

geotia Calcareea en donne aussi un bel exemple (Pl. X, fig. 24).

J'ai montré le rôle que jouent ici les micelles cytoplasmiques au cours de la formation de la membrane transversale : dans l'espace qui divise la bandelette chlorophyllienne, les corpuscules browniens d'abord régulièrement répartis dans la cellule, viennent progressivement constituer une barrière vibrante au sein de laquelle s'édifie la paroi.

Conferva bombycina offre des cellules à corpuscules particulièrement abondants et mobiles au stade qui précède la condensation du contenu cellulaire aboutissant à la formation des hypnospores (Pl. IX, fig. 8).

Reproduction. — J'ai observé que chez *Batrachospermum moniliforme*, on ne rencontre de corpuscules browniens qu'au niveau des cellules terminales du thalle constituant les oogonies ; chez une diatomée *Melosira varians*, l'état de sol est très net dans les cellules sur le point de fournir les auxospores ; le protoplasma des cellules de *Monostroma bullosum* est composé de même façon, dans les ilots qui sont sur le point de fournir des zoospores.

Enfin chez les *Conjuguées* la transformation du gel en sol constitue l'une des premières manifestations de l'activité reproductrice et apparaît même avant la formation des tubes de conjugaison.

En résumé, le cytoplasma des cellules de chacune des espèces algales précédemment examinées est constitué à certains moments particuliers de leur évolution, par d'abondants granules aux dimensions variables mais généralement sub-microniques et animés du mouvement brownien ; ils doivent être considérés comme les micelles des hydrosols bio-colloïdaux constitutifs, dont ils représentent la phase dispersée ; quant à la partie intergranulaire, homogène, habituellement considérée comme la seule substance réellement vivante, elle n'en est que la phase dispersée.

Cette théorie, justifiée par les faits d'observation, confère aux granules micellaires du cytoplasma une singulière importance et les élève au rang de constituants fondamentaux de la substance vivante.

Comme on a pu le voir, la forme des granules cytoplasmiques

est très variable ; affectant très généralement l'aspect de grains isolés quand ils sont proches de l'ultime visibilité microscopique, ils se groupent fréquemment pour former, tantôt de petits chapelets rectilignes ou sinueux, tantôt des masses irrégulières rappelant la disposition que prennent les staphylocoques ; parfois encore ils affectent la forme de bâtonnets linéaires ou incurvés, indépendants ou groupés de façon à constituer de courtes chainettes.

Ces aspects micellaires sont comparables à ceux que l'on peut observer dans certains hydrosols artificiels que j'ai étudiés précédemment (voir p. 429).

Dès 1905, DIESELHORST et FREUNDLICH ont montré que les particules élémentaires de l'hydrosol de pentoxyde de vanadium ont la forme de bâtonnets ; d'après ZOCHER il en serait de même pour les micelles des sols de diverses substances (benzopurpurine, primuline, alizarine, bleu d'aniline, oxycyanure d'argent, etc.) et ZSIGMONDY et BACHMANN ont signalé ultérieurement dans les hydrosols de savons, la présence de micelles polymorphes.

Dans la cellule vivante — tout comme dans les colloïdes artificiels — ce polymorphisme est général. L'apparition ou la disparition des corpuscules cytoplasmiques est fonction des qualités de la phase dispersée et leur forme, conditionnée par les mêmes facteurs, ne comporte aucune stabilité spécifique et aucune signification physiologique déterminée.

Cette constatation tire à conséquence : de nombreux micrographes, considèrent le cytoplasma comme constitué par une substance d'aspect homogène, au sein de laquelle ils placent des enclaves permanentes qu'ils considèrent comme étrangers à sa structure colloïdale (GUILLIERMOND et G. MANGENOT, 1928) ; ces enclaves ou organites constitutifs, bien qu'ayant reçu des appellations variées (chondriosomes, chondriomites, mitochondries, chondriocontes, granula, plastosomes, etc.), ne peuvent être différenciées des formations granulaires que je viens de décrire. Tous ces prétendus organules représentent les micelles de la phase dispersée des colloïdes cytoplasmiques, perceptibles au microscope grâce à leurs qualités de réfringence et à leur énorme volume.

CHAPITRE VII

CINÉTIQUE DES MICELLES CYTOPLASMIQUES

Mouvements protoplasmiques et formations vacuolaires.

L'explication de nombreuses énigmes de biologie cellulaire est liée à la vérification et à l'interprétation, chez les bio-colloïdes, des lois fondamentales qui caractérisent les suspensions colloïdales artificielles. Bien que l'expérimentation et l'observation soient loin de pouvoir, actuellement, confirmer la communauté des réactions qui doit exister entre les colloïdes vivants et les colloïdes artificiels, certaines propriétés que l'on retrouve également dans les deux groupes méritent de retenir l'attention car elles permettent de fructueuses déductions.

Au nombre des caractères physico-chimiques que l'on confère à la micelle colloïdale, l'un des plus importants est celui de sa charge électrique; il conditionne les phénomènes de l'électrophorèse et se trouve lié à plusieurs manifestations des réactions colloïdales. Je me bornerai à rechercher ici, s'il est plausible d'attribuer aux micelles bio-colloïdales les mêmes propriétés électriques.

On a pu constater, qu'au mouvement brownien qui est constant pour toutes les micelles des hydrosols vivants, venaient souvent se surajouter des mouvements de translation tantôt continue, tantôt discontinue. Ces manifestations cinétiques secondaires sont particulièrement perceptibles chez *Mougeotia scalaris* et *M. calcarea*, *Spirogyra jugalis*, *S. inflata*, *S. varians* et *S. catenæformis*; chez *Closterium lunula*, elles acquièrent une intensité et une régularité qui les rapprochent des phénomènes de cyclose observés depuis longtemps chez les *Characées*.

Je qualifie ces mouvements de secondaires car il y a lieu de les distinguer des lents déplacements latéraux et incoordonnés qui dépendent directement de l'agitation moléculaire: on sait en effet, depuis les remarquables expériences de J. PERRIN (1908), que les corpuscules browniens ne se contentent pas d'osciller autour d'un point d'équilibre moyen et qu'ils présentent une

translation discontinue et régulière. En examinant certains granules du cytoplasma de *Spirogyra jugalis*, j'ai constaté que le déplacement était de 8 μ en 20 secondes, pour une grosseur micellaire de 1 μ 5 et de 4 μ seulement, en 55 secondes, pour un grain de 3 μ ; qu'un granule de 0,3 μ chez *Melosira varians* parcourait 17 μ en 15 secondes. Ces observations confirment le principe qui démontre que l'amplitude des déplacements est en raison inverse de la grosseur des grains.

Les mouvements secondaires que peut affecter la micelle protoplasmique ont depuis longtemps attiré l'attention des observateurs, qui les ont décrits sous le nom de *courants granulaires*; observés pour la première fois par WORONINE, ils ont été depuis l'objet de nombreux travaux. La description longue et minutieuse qui en a été faite par VAN TIEGHEM (1891), me dispense d'entrer ici dans de plus grands développements et PFEIFFER (1912) qui les a étudiés avec toute la rigueur scientifique désirable, en fournit une bibliographie abondante.

Il me suffira de faire remarquer que le mouvement granulaire, fréquemment observé dans *Spirogyra jugalis* (Pl. IX, fig. 9), dans *Mougeotia scalaris* (Pl. X, fig. 20, 21, 22, 23) et plus particulièrement encore dans *Closterium lunula* (Pl. X, fig. 27 et 28) où il prend l'allure de la cyclose, coexiste toujours avec l'état d'hydrosol du cytoplasme.

L'explication des mouvements protoplasmiques se pose à peine pour les adeptes du Vitalisme : ils les attribuent à un principe particulier et mystérieux : « le protoplasma vivant est animé par des forces internes et ces forces lui impriment des mouvements intérieurs qui manquent à tous les autres corps connus. Les forces moléculaires qui résident et agissent en lui, ne peuvent donc pas, sans autre explication, être assimilées à celles qui sont en jeu dans toute autre substance non vivante ». VAN TIEGHEM (p. 459). Cette conception va de pair avec celle d'une masse homogène, fluide, optiquement vide, dans laquelle les granules sont considérés comme des enclaves étrangères à sa propre substance et subissant passivement les mouvements de la matière fondamentale, seule vivante, à la façon des épaves et des détritrus que charrie un cours d'eau.

Des auteurs, persuadés par contre, que tous les phénomènes de la vie doivent se réduire aux seules lois physico-chimiques,

se sont efforcés de découvrir la formule mécaniste de cette manifestation cinétique du protoplasma; ils n'ont réussi qu'à édifier des théories peu satisfaisantes. Tantôt la raison du courant protoplasmique est rapportée aux variations de la tension superficielle, BERTHOLD (1886), BÜTSCHLI (1900), PFEFFER (1890); tantôt à la pression osmotique; SCHRÖTER (1903); TERMETZ (1900) l'attribue à la dilatation et à la contraction alternatives de vacuoles. AMICI (1849) et VELTEN (1875) sont les seuls à en avoir cherché la cause dans les courants électriques, mais leurs interprétations sont restées forcément vagues, en raison de l'imprécision des connaissances physico-chimiques de l'époque.

De toute façon le problème demeurerait fort obscur et en 1923 Félix HENNEGUY confesse avec O. HERTWIG que « de toutes les hypothèses émises jusqu'à ce jour, aucune ne nous donne une idée satisfaisante des causes et des conditions mécaniques des mouvements du protoplasma, et que nous devons par conséquent nous en tenir pour le moment à la simple description des faits observés ».

Il est, pour le moins, curieux que les biologistes n'aient pas été conduits plus tôt à faire intervenir dans l'explication des mouvements granulaires les notions familières de la colloïdité; c'est en grande partie à l'entrave de préjugés histologiques qu'il faut attribuer ce retard.

Si l'on persiste en effet à prétendre que le cytoplasma est constitué uniquement par la masse homogène intermicellaire, seule dépositaire des manifestations vitales, il n'est guère possible, à moins de recourir à quelque Mystique, de découvrir la force capable de le mettre en mouvement. Si au contraire cette masse interstitielle et amorphe, cessant d'être prise pour la seule partie importante, n'est considérée que comme la phase dispersée des colloïdes protoplasmiques, dont les granules constituent la phase dispersée, le mouvement d'entraînement trouve son explication naturelle dans le principe de l'électrophorèse.

La *migration électrique* est caractérisée par le déplacement des granules d'une solution colloïdale dans laquelle on détermine un champ électrique; tantôt la phase dispersée se dirige vers le pôle positif, tantôt vers le pôle négatif des électrodes. On est ainsi amené à considérer, qu'une solution colloïdale à l'état statique, contient des granules chargés d'électricité de

même sens, se repoussant et n'ayant aucune tendance à s'agglomérer et l'on peut prévoir que si un champ électrique est créé dans la solution, les particules se dirigeront vers l'électrode de signe contraire à leur charge. L'expérience conduit à admettre l'existence de colloïdes positifs et de colloïdes négatifs, en se basant sur la différence de comportement de ces deux catégories de substance, vis-à-vis des électrodes.

Pour J. PERRIN, le mécanisme de l'électrophorèse doit être rattaché à celui de l'osmose électrique ; pour J. DUCLAUX (1922) il dépend de l'ionisation des micelles.

J'insisterai quelque peu sur la théorie de J. PERRIN. On est redevable à WIEDEMANN (1852) d'avoir précisé les lois de l'osmose électrique dont je rappellerai le principe : si l'on partage une solution aqueuse, en deux régions, par un diaphragme poreux et si on crée une différence de potentiel entre ces deux régions le liquide se met aussitôt à filtrer au travers du diaphragme.

À la théorie de WIEDEMANN, QUINCKE (1861) a substitué l'hypothèse de la double couche d'HELMHOLTZ, qui permet de réunir la théorie de l'osmose électrique à celle de l'électrisation de contact.

Le contact entre deux corps, développe des charges électriques, qui forment sur les deux parois, deux couches de signes contraires, adhérentes à ces parois et qui subsistent en équilibre malgré l'attraction qui les sollicite l'une vers l'autre. La conséquence de ce principe a été formulée par PERRIN : dès qu'une particule quelconque, en suspension dans un fluide, se trouve dans un champ électrique, elle devra se mouvoir parallèlement à ce champ et dans un sens déterminé par le signe de l'électricité qui lui est adhérente.

Le transport électrique est un phénomène constant et général pour toute suspension colloïdale ; les hydrosols protoplasmiques doivent donc posséder cette propriété et l'on conçoit ainsi que leurs granules sont susceptibles de se mouvoir sous l'influence des champs électriques auxquels ils sont soumis.

Laissant ici de côté l'action des courants électriques dont l'origine est artificielle et étrangère à la cellule, j'envisagerai simplement si l'hypothèse de l'entraînement électrophorétique des granules cytoplasmiques peut se justifier par des causes

naturelles et si des tensions électriques peuvent exister et se former d'une façon normale et physiologique dans la cellule ou dans son voisinage immédiat. On doit considérer l'électrobiogénèse comme le processus physiologique le plus généralement répandu chez les êtres vivants, ACHALME (1913); elle accompagne tous les phénomènes vitaux. C'est à Ed. BECQUEREL (1850-1851-1853) qu'est due la première démonstration des courants électriques dans les végétaux; ses expériences furent reprises et vérifiées par WARTMANN (1850), BUFF (1854), et HORMANN établit en 1898 que dans une plante, toute partie lésée est négative par rapport à la partie intacte. De nombreux travaux ultérieurs, ont démontré péremptoirement la production spontanée de tensions électriques chez les êtres organisés et l'on a pu constater que les différences de potentiel que l'on peut y déceler par le moyen d'un galvanomètre ultra-sensible, intercalé en dérivation dans le circuit réunissant les électrodes, restent constantes au cours des observations: elles sont donc liées à une activité continue que PFEFFER (1912) rapporte aux échanges de substance, en remarquant toutefois que l'action mécanique du mouvement de l'eau dans les espaces capillaires ou à l'intérieur des membranes peut intervenir dans leur production.

Les courants bio-électriques semblent aussi se trouver en rapport étroit avec la fonction respiratoire (HAAKE, 1892); les recherches de WALLER (1901) démontrent d'autre part que la lumière exerce une influence considérable sur la production de l'électricité chez les plantes.

Les origines des courants électriques dans la substance vivante sont sans doute multiples et les incessantes réactions du chimisme cellulaire doivent prendre une large part à leur formation. On sait que tout phénomène chimique est accompagné d'un phénomène électrique: on obtient un courant de dérivation dans le cas où une réaction chimique est produite par la rencontre de deux substances réunies par diffusion; en effet, dans un arc mis en dérivation, on constate une décharge considérable de l'électromètre quand une solution de sulfate de cuivre et une solution de ferrocyanure de potassium se rencontrent dans une bande de papier filtre humide et entrent en réaction (HAAKE, 1892, p. 454).

Enfin, les travaux de LOEB (1924) ont apporté des données nouvelles et des précisions capitales dans le domaine des actions et des manifestations des phénomènes électriques chez les colloïdes; les expériences de DONNAN (1911) à propos des équilibres de membrane, s'y trouvent vérifiées pour les solutions de sels de protéine séparées de l'eau par une membrane de collodion. Je rappellerai que DONNAN a démontré, qu'une différence dans la concentration des ions diffusibles des deux côtés opposés d'une membrane, produit une différence de potentiel entre ses deux faces.

Deux termes principaux et suffisants du problème se trouvent nettement acquis par ce qui précède : d'un côté des micelles protoplasmiques dont la charge électrique ne peut être contestée; d'autre part des actions électriques liées à des différences de potentiel qui représentent l'une des manifestations les plus constantes de la matière vivante. En conséquence les granules, qui constituent la phase dispersée des bio colloïdes à l'état d'hydrosol, doivent se déplacer dès qu'une différence de potentiel se trouve créée dans la masse. Leur déplacement se traduira dans la cellule vivante sous la forme de mouvement granulaire discontinu ou de mouvement continu (cyclose) suivant que l'action du champ électrique est elle-même discontinue ou continue.

La preuve expérimentale de l'électrophorèse dans la cellule vivante est difficilement réalisable. L'excitation électrique directe détermine des effets électrolytiques nocifs qui tuent très rapidement le protoplasma, plasmolyse la cellule et ne peut conduire qu'à des observations erronées.

M'inspirant des procédés classiques utilisés dans les manipulations de physico-chimie colloïdale (LEONOR MICHAELIS, 1923 et Wo. OSTWALD, 1924) je me suis efforcé de faire agir le courant à distance, mais je n'ai pu obtenir jusqu'ici que des résultats peu probants.

Il serait nécessaire de trouver un dispositif permettant, suivant la suggestion de PREVANT (1904), l'expérimentation dans un champ électrique très actif ou encore de soumettre les cellules à l'action d'un champ magnétique intense. Bien que les anciennes expériences de BECQUEREL (1837), de DUROCHET (1846) et de REINKE (1842), peuvent, jusqu'à un certain point, paraître négati-

tives, il est probable que les électro-aimants d'une puissance exceptionnelle, dont la construction a été réalisée récemment, pourraient conduire à des résultats concluants.

Toutefois les modifications transitoires déterminées dans le cytoplasma par l'action d'une solution de caféine, suivant le procédé que j'ai précédemment indiqué, peuvent être considérées comme une vérification expérimentale indirecte de l'électrophorèse *in vivo* (LEBLOND, 1928).

La solution de caféine mise en contact, en portion infinitésimale, avec un filament de *Spirogyra* dont les cellules sont choisies à l'état de gel, détermine dans certaines régions du protoplasma, la formation d'hydrosols dont les granules affectent un mouvement de translation discontinue, caractéristique du mouvement brownien, auquel succède un mouvement de migration continue qui donne naissance à de réels courants protoplasmiques.

Les phénomènes d'ionisation auxquels donne lieu la pénétration de la solution de caféine dans la cellule se traduisent par le passage du gel primitif au sol et cette transformation entraîne la création de différences de potentiel intracellulaires :

« La substance vivante d'une cellule est une goutte de liquide dans laquelle s'accomplissent sans cesse des transformations chimiques compliquées. Si celles-ci sont égales en tous les points de la cellule, il ne se forme pas de courant, mais si elles diffèrent qualitativement ou quantitativement aux deux pôles opposés de la cellule, de manière à faire naître une différence dans la charge électrique, il en résulte une tension entre ces deux pôles » (VERWORN, 1900, p. 297, fig. 119).

Ces différences de potentiel se retrouvent également au niveau de la paroi cellulaire, ainsi que J. LÖB l'a démontré (1923, p. 199 et suivantes).

La constance des tensions électriques intracellulaires ou pariétales permet d'étendre les manifestations de l'électrocinèse à tout cytoplasme à l'état de sol ; non seulement la théorie est applicable au mouvement de circulation ou de cyclose que l'on observe par intermittence chez les *Conjuguées* et de façon permanente chez de nombreuses *Desmidiées*, mais à celui de toutes les espèces chez lesquelles il a été normalement observé ; je pense même, ainsi qu'il en résulte de travaux en cours, qu'une

application judicieuse pourrait en être faite dans l'explication des déplacements amoëbiens ainsi que de ceux des Oscillaires et des Diatomées.

A l'appui de la théorie électrocinétique des mouvements protoplasmiques, j'ajouterai quelques faits tirés de l'observation.

Dans un courant protoplasmique régulier et continu, les corpuscules se meuvent d'autant moins vite qu'ils sont plus volumineux ; cette constatation oblige à considérer qu'ils trouvent en eux-mêmes leur force de transport et qu'ils ne sont pas de simples épaves transportées par la masse interstitielle, car dans ce cas ils subiraient un déplacement uniforme.

On sait, d'autre part, que le mouvement circulatoire ne commence qu'à une certaine température, variable suivant les plantes ; sa vitesse augmente progressivement avec la température, jusqu'à un certain maximum, puis elle décroît rapidement jusqu'à devenir nulle si la température continue à s'élever et bientôt on assiste à la coagulation des substances protoplasmiques.

Sans qu'il soit nécessaire de rappeler ici les diverses modalités de ces phénomènes, que l'on trouve longuement exposés dans les Traités de physiologie végétale (VAN TIEGHEM, PFEFFER), il faut constater que la *coagulation suit toujours de très près l'arrêt du mouvement cytoplasmique*.

La notion du point isoélectrique des suspensions colloïdales établie par HARDY (1900), fournit l'explication des rapports qui existent entre l'arrêt du mouvement granulaire et la coagulation.

Il est bien démontré que la qualité de la charge des micelles des colloïdes constants — tels les protéines — dépend très étroitement du P_H de la phase externe ; les granules de ces colloïdes appelés amphotères, se meuvent vers un pôle ou vers un autre suivant la concentration des ions H du liquide intermicellaire : un hydrosol d'albumine est rendu électronégatif par une trace d'alcali et électropositif par une trace d'acide. On est ainsi conduit à considérer un moment (point isoélectrique) où les granules ne se déplacent ni vers l'anode ni vers la cathode. Au point isoélectrique, déterminé par une certaine concentration des ions hydrogène, l'instabilité des colloïdes est extrême et leur coagulation fort aisée ; des traces infimes d'une substance ionisante, peuvent déclencher ce phéno-

mène : un hydrosol d'hydroxyde de fer est coagulé par certains acides en concentration de 1 molécule par 4 millions cm^3 . Une suspension électronégative de mastic dans l'eau distillée devient isoélectrique en présence de BaCl_2 en concentration de 1 molécule pour 600.000 cm^3 (W. KOPACZEWSKI, 1926).

Si l'on considère que l'ionisation de l'eau $\rightarrow$ concentration des ions H et OH $\rightarrow$ croît avec la température, on comprend les raisons de l'extrême sensibilité des colloïdes amphotères vis-à-vis des actions thermiques.

Il me reste à examiner certaines particularités des mouvements cytoplasmiques que l'on peut faire rentrer dans le cadre des phénomènes électrophorétiques.

Les différences de potentiel, passagères et locales, qui surgissent perpétuellement dans la masse cytoplasmique, sous l'influence du chimisme cellulaire, expliquent sans difficulté les mouvements intermittents et saccadés des granules, que l'on rencontre dans le cytoplasma de certaines espèces de *Spirogyra* et de *Mougeotia*. Quant aux mouvements continus qui caractérisent la cyclose, ils ne se comprennent que si l'on admet des polarités fixes ; celles-ci se conçoivent assez facilement dans *Closterium lunula* et espèces voisines, où les deux régions apexiennes constituent des centres fonctionnels que l'on peut assimiler à des générateurs d'énergie électrique permanente.

Enfin, j'envisagerai de quelle façon il y a lieu de concevoir la simultanéité de courants de sens inverse dans la même masse cytoplasmique.

Non seulement, deux bandes granulaires parallèles peuvent cheminer en sens contraire, mais parfois même, un courant médian se trouve bordé par deux courants qui se déplacent suivant un sens opposé à celui du courant qu'ils délimitent.

Deux solutions viennent ici s'affronter dans l'interprétation de ce phénomène : la première repose sur la coexistence dans les colloïdes cytoplasmiques de granules de signe opposé ; cette hypothèse quoique vraisemblable, manque toutefois de vérification *in vivo*.

La deuxième, découle de certains résultats expérimentaux obtenus par l'examen de suspensions soumises à l'action d'un courant électrique :

Dans un électrosol de platine soumis au transport électrique, les micelles se dirigent vers le pôle négatif; en pointant le fond de la préparation, on trouve qu'il existe un autre courant micellaire, en sens contraire, c'est-à-dire orienté vers le pôle positif.

Si l'on observe un électrosol d'argent, le phénomène est très différent: ici, il se forme aussi deux courants de sens inverse, mais le courant de la zone centrale se dirige vers l'anode alors que dans l'hydrosol de platine le déplacement se fait vers la cathode (A. DE GREGORIO, 1920, p. 71).

L. MICHAELIS (1923) donne dans son *Manuel de Techniques de physico-chimie des colloïdes* (p. 134) une théorie de ce phénomène paradoxal; bien que l'explication en reste incertaine, elle mérite néanmoins d'être rapprochée des faits que j'ai constatés dans la masse cytoplasmique en mouvement.

Le cytoplasma des espèces algales que j'ai eu l'occasion de décrire précédemment, affecte fréquemment un aspect vacuolaire, souvent transitoire, dont la formation peut être rapportée à l'apparition des hydrosols synérétiques qui accompagnent la coagulation.

Certaines *Desmidiées*, notamment les espèces du genre *Closterium*, *Penium* et *Pleurotaenium*, présentent dans la région apicale de chaque demi-cellule, une vacuole généralement permanente dont la signification morphologique et le rôle physiologique ne sont pas encore entièrement élucidés; on sait toutefois, depuis les observations de FISCHER (1884) que la trépidation des cristaux de gypse qui y sont inclus ne dépend pas uniquement de l'activité brownienne, mais qu'elle est étroitement liée à l'activité du protoplasma cellulaire. Plus récemment, A. FREY (1926), à la suite de recherches d'une remarquable précision a découvert que les corpuscules vacuolaires de *Closterium didymotococum* Corda, obéissent rapidement à l'action de la pesanteur et qu'ils affectent par intermittence des mouvements de brusque projection centripète que l'agitation moléculaire seule ne peut expliquer; cet auteur suppose que ces mouvements surajoutés au mouvement brownien résultent de la projection d'un courant dirigé vers le centre de la vacuole « comme si le protoplasma qui l'entoure se débarrassait d'un liquide qu'il faisait jaillir sous une certaine pression ».

Les observations que j'ai pu faire sur *Closterium lunula*

Nitzsch, transforment en réalité objective l'hypothèse des jets d'excrétion de FREY et apportent une contribution nouvelle à l'étude de l'origine si controversée des vacuoles.

En effet, la portion du cytoplasme de *C. lunula* comprise entre la vacuole à inclusions de gypse et l'apex, se présente à l'observation *in vivo*, comme le point de départ et d'arrivée des courants plasmatiques longitudinaux qui parcourent la cellule, d'un pôle à l'autre ; ce carrefour examiné sur fond noir, donne l'aspect d'un hydrosol dont le brassage micellaire intense est l'indice d'une activité fonctionnelle importante ; l'examen en lumière directe le montre comme constitué par d'abondantes granulations dont les migrations incessantes laissent néanmoins percevoir le mouvement brownien qui les anime. La dimension de ces corpuscules mobiles est très variable : elle s'étage des limites de la résolution microscopique jusqu'à $0,5\ \mu$; aucun autre caractère morphologique ne permet de les individualiser et l'emploi des colorants vitaux usuels (Rouge neutre, bleu de crésyl, vert janus) n'y laisse percevoir aucune différenciation cytologique.

Suivant certaines conditions favorables, qui paraissent coïncider avec les stades préliminaires de la conjugaison, on constate que, dans une région indéterminée de l'essaïm granulaire, un certain nombre de corpuscules s'écartent progressivement les uns des autres pour délimiter une minuscule vacuole transparente, s'accroissant assez rapidement ; dans son voisinage immédiat d'autres formations identiques éclosent successivement et ne tardent pas à entrer en coalescence pour constituer une vacuole unique dont le diamètre atteint finalement $6\ \mu$ environ ; au bout d'un laps de temps qui ne dépasse guère 10 minutes celle-ci entre en contact avec la vacuole à cristaux et s'y fusionne brusquement sous l'influence de la tension superficielle, à la façon de deux gouttelettes d'eau que l'on met en présence (A, B, C de la fig. 7 représentent les stades successifs de ce phénomène).

L'apparition et la disparition de ces vacuoles accessoires auxquelles il ne semble pas possible d'assigner actuellement un rôle physiologique défini, n'obéissent à aucun rythme chronologique régulier.

L'observation vitale ne permet pas de leur attribuer une indi-

vidualité cytologique réelle ; leur formation n'est pas liée à une vacuole préexistante pas plus qu'elle ne dépend de la différenciation d'organules spécifiques et prédestinés ; d'origine intermicellaire, elles doivent être rangées, en raison de la rapidité de leur formation, au nombre des réactions bio-colloïdales.

Les sols émulsoides qui composent le cytoplasme des portions apexiennes de *C. lunula*, sont susceptibles de passer de l'état de sol à l'état de gel ; cette mutation structurale de la matière vivante, sur la signification de laquelle j'ai attiré antérieurement l'attention, rend vraisemblable la formation de gels parcellaires ; étroitement entourés d'hydrosols, leur gélification

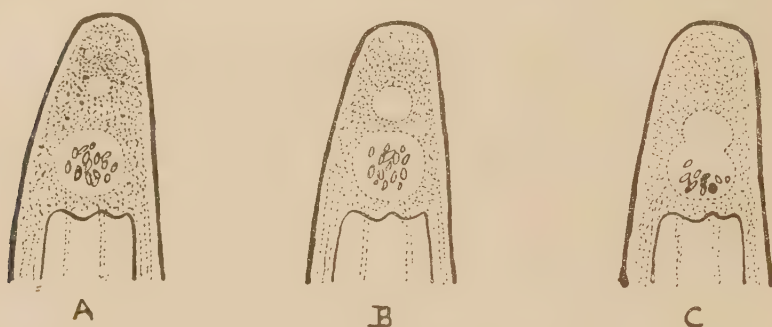


Fig. 7. — Evolution des vacuoles accessoires dans la région apexienne de *Closterium lunula* (Mull.) Nitzsch.

s'effectue aisément ; la transformation aboutit à une coagulation qui suivant les lois de la synerèse (P. BARY, W. KOPACZEWSKI) s'accompagne de l'apparition d'un sol, assimilable à une véritable sécrétion mécanique que l'on peut considérer comme l'origine des formations vacuolaires.

En résumé, représentant schématiquement la marche du phénomène de la façon suivante :

$$\text{Sol} = \text{gel} = \text{gélification} = \begin{cases} \text{coagulation} \\ \text{sol synérétique} \\ \quad \text{(vacuole)} \end{cases}$$

on peut rapporter l'origine des vacuoles accessoires observées chez *C. lunula*, à l'apparition transitoire d'un hydrosol synérétique résultant de la gélification de gels protoplasmiques parcellaires.

CONCLUSIONS

En confrontant les lois générales de la colloïdité aux notions que l'on possède actuellement sur la structure chimique et le poids moléculaire des éléments constitutifs de la molécule protoplasmique, il devient légitime de supposer que la micelle des bio-colloïdes, en raison de l'énorme dimension de chacune des innombrables molécules qui contribuent à sa formation, peut atteindre dans la cellule vivante, un volume tel qu'elle devient observable aux plus forts grossissements du microscope simple.

Mes recherches, poursuivies sur un grand nombre d'espèces d'Algues d'eau douce, strictement pratiquées sur le vivant, m'ont amené à considérer que les multiples formations granulaires que l'on peut observer fréquemment, à l'éclairage direct, dans leur cytoplasma, sont constituées par des amas de micelles bio-colloïdales, caractéristiques de l'état de sol. Cette constatation va à l'encontre de l'opinion classique qui prétend que le cytoplasma se présente toujours, *in vivo*, sous l'aspect d'une substance homogène, optiquement vide, autrement dit à l'état de gel.

J'ai montré, en effet, que les corpuscules qui confèrent au cytoplasma l'aspect granuleux, sont doués d'un mouvement essentiel que l'on doit, sans conteste, attribuer à l'agitation moléculaire.

Si le mouvement brownien est caractéristique de l'état de sol, il faut admettre que la plupart des corpuscules mobiles que l'on rencontre dans la cellule vivante représente les micelles des hydrosols cytoplasmiques.

Ces granules micellaires sont polymorphes. Ils sont en général, de dimension sub-micronique ; tantôt, lorsqu'ils sont voisins de l'ultime visibilité microscopique, ils affectent l'aspect de grains isolés et se groupent fréquemment pour former des petits chapelets ; tantôt ils prennent la forme de bâtonnets plus ou moins incurvés, indépendants ou associés, de façon à constituer de courtes chaînettes. De toute façon ils ne peuvent être différenciés, par l'examen sur le vivant, des « organites constitutifs » désignés sous les noms de mitochondries granu-

leuses, chondriomites, chondriosomes, etc. ; ils constituent les éléments de la phase dispersée d'hydrosols cytoplasmiques ; leurs qualités de réfringence et leur énorme volume les rendent optiquement perceptibles.

L'apparition ou la disparition de ces corpuscules est fonction des qualités de la phase dispersée qui les contient ; leur forme ne comporte aucune stabilité spécifique ni aucune signification physiologique précise.

Mes observations, en concordance avec ce que l'on sait de la mutabilité essentielle des colloïdes, montrent que l'état granuleux du cytoplasma — caractéristique de l'état de sol — n'est pas permanent et qu'il peut suivre ou précéder l'aspect hyalin de la cellule, optiquement vide — état de gel.

J'ai constaté qu'hydrosols et hydrogels peuvent coexister dans la même cellule.

L'alternance des deux états — gel et sol — est fonction de l'activité biologique cellulaire ; en général, la mutation de l'hydrogel en hydrosol, ne s'effectue qu'à l'occasion de manifestations fonctionnelles ou évolutives telles que l'accroissement, la division, la reproduction sexuée ou asexuée.

Il est possible de vérifier chez les hydrosols cytoplasmiques, certaines propriétés physiques particulières aux suspensions colloïdales :

J'ai établi, au cours de ce travail, qu'au mouvement brownien, constant pour toutes les micelles des hydrosols vivants, se surajoutait parfois un mouvement de translation continue ou discontinue. Les lois de l'électrophorèse appliquées à l'étude de l'entraînement des granules cytoplasmiques donnent l'explication des mouvements de grande amplitude (cyclose) qu'ils peuvent décrire dans la cellule.

La formation d'hydrosols synérétiques, au sein des bio-colloïdes, fait attribuer une origine mécanique à certaines vacuoles cytoplasmiques et permet de les considérer comme constituées *de novo*. Le mode d'apparition des vacuoles accessoires au niveau des régions apexiennes de *Closterium lunula* montre qu'elles ne naissent pas aux dépens d'organites prédestinés mais qu'elles sont d'origine intermicellaire.

BIBLIOGRAPHIE

- ABRIC, 1905. — Les mouvements browniens intraprotoplasmiques (*C. R. Soc. Biologie*, 4 mars).
- ACHALME (P.), 1913. — *Electronique et Biologie*. Paris, Masson.
- ADAIR, 1924. — *Proc. Cambridge Philos. Soc. Biol. Sc.*, I.
- AMICI, 1849. — Voir in Göppert et Cohn. *Bot. Ztg.*
- ARRHENIUS, 1914. — Les suspensions et les phénomènes d'absorption: Conférence en la Sorbonne. Paris, mars.
- BARY, 1921. — *Les Colloïdes*. Paris, Dunod.
- BAYLISS (W. M.), 1920. — The properties of colloïdal systems. IV. Reversible gelation in living protoplasm. *Proc. Roy. Soc. B.* 91, 196-201.
- BEQUEREL, 1853. — *C. R.*, vol. V, p. 784.
- BEQUEREL (Ed.), 1850-1851-1853. — Sur les causes du dégagement de l'électricité chez les végétaux. *C. R. Ac. Sc.*
- BERTHOLD, 1886. — *Protoplasma mechanik*.
- BILTZ (W.), 1913. — *Koll. Zeit.*, 12, p. 296.
- BROWN (R.), 1828. — *Ann. Sc. naturelles*, t. 14, p. 341.
- 1830. — *Id.*, t. 19, p. 104.
- BUFF, 1834. — Ueber die Elektrizität serregung durch lebende Pflanzen. *Ann. Chim. et Pharm.*, t. 89, pp. 76-89.
- BÜTSCHLI, 1900. — *Arch. f. Entwicklungsmechanik*.
- CHAMBERS, 1923. — In *General cytology*; the University of Chicago Press, p. 248.
- 1917. — Microdissection studies. The visible structure protoplasma and death changes. *Journ. of Physiology*.
- CHIFFLOT (J.) et GAUTIER (Cl.), 1903. — Sur le mouvement intraprotoplasmique à forme brownienne des granulations cytoplasmiques. *Journ. de Bot.*, t. XIX, pp. 40-44.
- COMBES, 1927. — *La vie de la cellule vivante*. Paris, A. Colin.
- COTTON et MOUTON, 1906. — *Les ultramicroscopes et les objets ultramicroscopiques*. Paris.
- DELAGE (Y.) et GOLDSMITH, 1913. — *La Parthénogénèse naturelle et expérimentale*.
- DUBOIS (R.). — *Leçons de physiologie générale et comparée*.
- DONNAN (F.-G.), 1914. — *Z. Electrochem.*, t. XVII, p. 572.
- DUCLAUX (J.), 1922. — *Les colloïdes*. Paris, Gauthier-Villars.
- DUTROCHET, 1846. — *C. R.*, vol. XXII, p. 619.
- FISCHER, 1884. — *Jahrb. für wiss. Botanik*, 14, 133.
- FREY (A.), 1926. — Etude sur les vacuoles à cristaux des Clostères. *Rev. gén. de Bot.*, juin, t. XXXVIII.
- GAIDUKOW, 1907. — Die Ultra-mikroskopie an Zellen. *Münch. med. Wochenschr.*, Bd LIV, p. 1504.

- 1910. — Dunkelfeldbeleuchtung und Ultramikroskopie in Biologie und medizina, Jena.
- GAUTIER (A.). — Chimie de la cellule vivante.
- GOUY, 1888. — *Journ. Physique*, t. 7, p. 561.
- 1889. — *C. R. Acad. Sciences*.
- 1895. — *Rev. gén. des Sciences*, t. 6, p. 1.
- GRAHAM, 1861. — *Philos. Trans.*, pp. 181-224.
- GRIMAUD (E.), 1882. — *Bull. Soc. Chim.*, 32, p. 64 et 1884, 42, p. 70.
- GREELEY, 1904. — Experiment on the physical structure of the protoplasm of *Paramœcium*. *Biol. Bull.*, vol. VIII, p. 332.
- GRÜBLER, 1891. — Ueber ein krystallinisches Eiweiss der kurbissamen. *Journ. f. praktische Chemie*, vol. XXIII.
- HAAKE, 1892. — *Flora*, p. 454.
- HARDY, 1900. — *Chemisches Zentralblatt*.
- HÖBER, 1906. — *Physicalische chemie der Zellen und der gewebe*. Leipzig.
- HORMANN, 1898. — Studien über die Protoplasmaströmung bei den Characeen. Jena.
- GREGORIO (A. de), 1920. — *Eléments de chimie physique colloïdale*. Paris, G.-Villars.
- KOPACZEWSKI (W.), 1926. — *Introduction à l'étude des colloïdes*. Paris, G.-Villars.
- GUILLIERMOND (A.) et MANGENOT (G.), 1928. — *Revue gén. des travaux de cytologie parus de 1910 à 1925*. Extrait de la *Revue gén. de Botanique*, t. 38-39.
- LANGERON (M.), 1913. — *Précis de microscopie*.
- LEBLOND (E.), 1919. — Le passage de l'état de gel à l'état de sol dans le cytoplasma vivant (*C. R. Soc. Biologie*, t. LXXXII, p. 4150).
- LEBLOND (E.), 1919. — L'état de sol dans ses rapports avec l'activité fonctionnelle du protoplasma (*C. R. Soc. Biologie*, t. LXXXII, p. 4220).
- LEBLOND (E.), 1924. — Algues du littoral septentrional du Golfe d'Ajaccio (Corse). *Revue Algol.*, t. I, pp. 156-167 et 267-271. Paris.
- LEBLOND (E.), 1925. — Contribution à la Flore Algologique du Boulonnais. *Trav. Station Zool. de Wimereux*, t. IX, pp. 416-425.
- LEBLOND (E.), 1928. — Electrophorèse colloïdale et mouvements protoplasmiques, *C. R. Soc. Biologie*, t. XCVIII, p. 672.
- LEBLOND (E.), 1928. — Note sur la formation des vacuoles accessoires de *Closterium lunula*. *C. R. Ac. des Sc.*
- LEWIS (W.-H.). — Observations on cells in tissue cultures with darkfield illumination. *Anat. Record*, 26, 45-29.
- LOEB (J.), 1906. — *Dynamique des Phénomènes de la vie*. Paris, Alcan.
- LOEB (J.), 1914. — *La conception mécanique de la vie*. Paris, Alcan.
- LOEB (J.), 1924. — *Les Protéines*. Paris, Alcan.
- LOEB (J.), 1925. — *La théorie des Phénomènes colloïdaux*. Paris, Alcan.
- MANN, 1906. — Définition, structure et composition du protoplasma (*C. R. 15^e Congrès Int. de méd. Lisbonne*).
- MAYER et SCHEFFER, 1908. — *C. R. Soc. biologie*, t. 64, p. 681.
- MEUNIER (L.), 1924. — *Chimie des Colloïdes*. Paris, Baillière.
- MICHAELIS (Leonor), 1923. — *Manuel de Techniques de Physico-chimie*. Paris, Masson.
- OSTWALD (W.), 1924. — *Manipulations de Chimie colloïdale*. Paris, G.-Villars.
- PENSA, 1925. — Les questions les plus discutées sur le cytoplasme des végétaux. *C. R. Assoc. des Anatomistes*. Réunion de Turin.

- PERRIN (J.), 1908. — *C. R. Acad. Sciences*, 146, p. 967.
PERRIN (J.), 1908. — *C. R. Acad. Sciences*, 147, p. 475.
PERRIN (J.), 1909. — *C. R. Acad. Sciences*, 149, p. 549.
PERRIN (J.), 1914. — *Les Atomes*. Paris, Alcan.
PFEFFER, 1877. — *Osmotische Untersuchungen*. Leipzig.
PFEFFER, 1890. — *Plasmahaut u. Vacuolen*.
PFEFFER, 1912. — *Physiologie végétale*. Trad. Friedel. Paris, Steinheil.
PRENANT (A.), 1904. — *Traité d'Histologie*, t. I. Cytologie générale et spéciale.
PREYER, 1866. — *De Hæmoglobino observationes et experimenta* Dissertation. Bonn.
QUINCKE, 1861. — *Ann. Phys. u. Chem.* 113, p. 545.
RABAUD (Etienne), 1920. — *Eléments de Biologie générale*. Paris, F. Alcan.
REINKE, 1882. — *Pflüger's Arch. f. Physiol.*, vol. XXVII, p. 440.
SABANAJEW et ALEXANDROW, 1891. — *Journ. Soc. Phys. Chimie russe*, 23, p. 7.
SCHRÖTER (A.), 1903. — *Ueber Protoplasmaströmung bei mucorinen*. *Flora*.
SIEDENTOPF, 1910. — *Berich*, 43, p. 692.
SPRING et DE BOECK, 1887. — *Bull. Soc. chim. Belge*, 2, 48.
STONEY, 1903. — *Journ. micro. Soc.*, p. 564.
STRASBURGER. — *Das Kleine botanische Practicum*.
TERNETZ, 1900. — *Jarb. f. wiss. Bot.*, vol. XXXV, p. 273.
TIEGHEM (van), 1891. — *Traité de Botanique*. Paris, Savy.
VELTEN, 1875. — *Wiener Akad.*, vol. LXXIII, 1^{re} partie, p. 343.
VERWORN (M.), 1900. — *Physiologie générale*. Paris, Schleicher.
WALLER, 1901. — *Centralbl. f. Physiol.*, t. 15, p. 480.
WARTMANN, 1850. — *Notes sur les courants électriques qui existent dans les végétaux*. *Bibl. un. Sc. phys. et nat.*, t. 15, pp. 304-305.
WIEDEMANN, 1852. — *Ann. Phys. u. chem.*, 87, p. 321.
ZINOFFSKY, 1885. — *Ueber die grösse des Hæmoglobin moleküls*. *Zeitschrift für physiol. chimie*, vol. X.
-

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

Botanique. — Liode chez les Algues.

Géologie. — Le Boulonnais.

VU ET APPROUVÉ :

Paris, le 16 Juillet 1928.

Pour le Doyen de la Faculté des Sciences,
L'Assesseur,
JEAN PERRIN.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Pour le Recteur de l'Académie de Paris,
L'Inspecteur d'Académie,
A. MAURELLET.

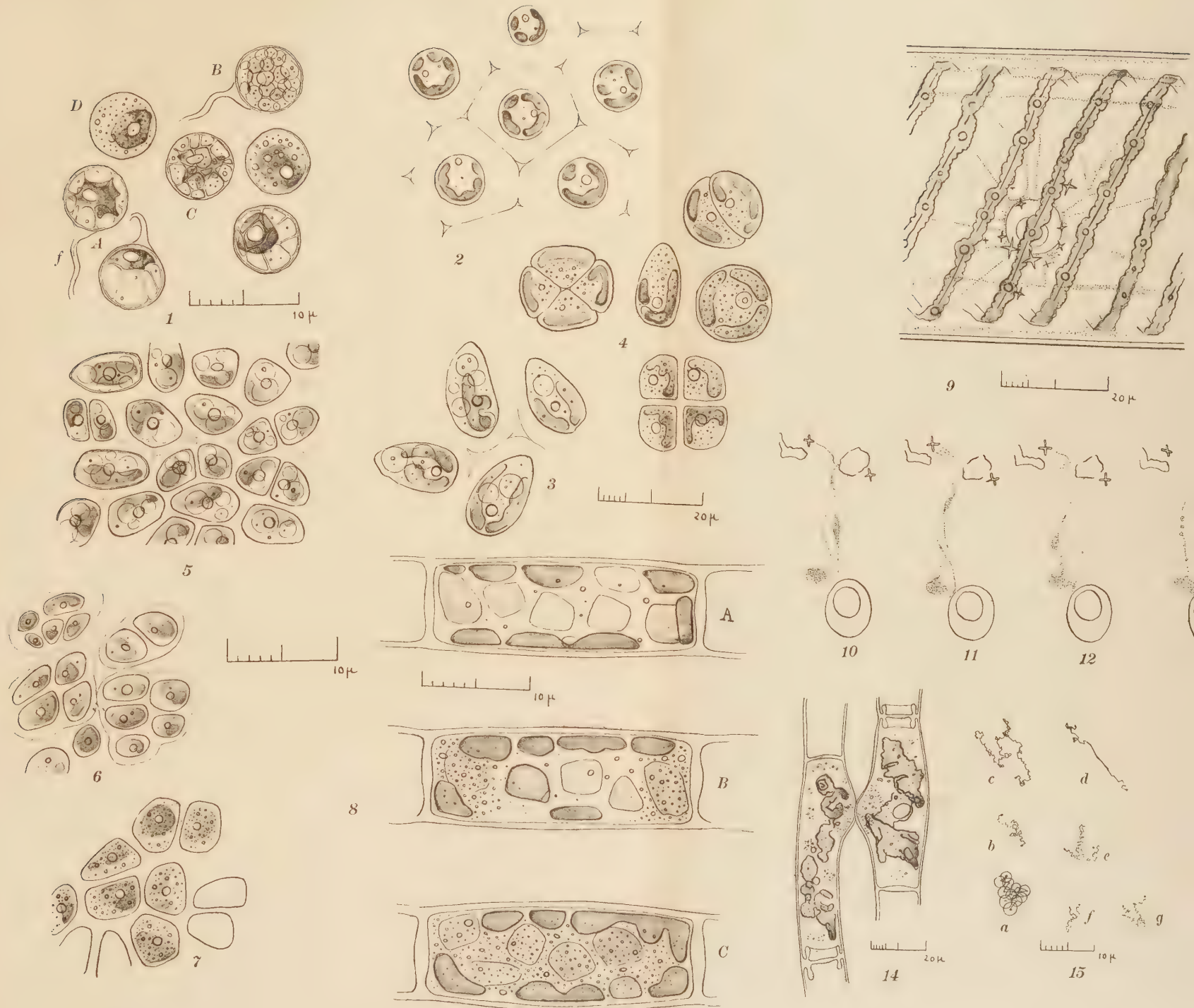
PLANCHE IX

EXPLICATION DES PLANCHES (1)

PLANCHE IX

- Fig. 1. — *Palmella miniata* Leibl. A, C, B, D, aspects successifs des cellules depuis l'état de gel A, jusqu'à celui de sol D; C et B représentent les états vacuolaires intermédiaires.
- Fig. 2, 3, 4. — *Tetraspora lubrica* (Roth) Ag. Les cellules végétatives (2) sont optiquement vidées; avant de présenter l'état granulaire des tétrades (4) elles passent par la forme 3 ou période de vacuolisation.
- Fig. 6, 5, 7. — *Monostroma bullosum* (Roth) Wittrock. En 6 le cytoplasma est homogène et caractérise l'état végétatif de la cellule; 7 répond à l'état granulaire qui précède la formation des zoospores. L'état vacuolaire intermédiaire est figuré en 5.
- Fig. 8. — *Conferva bombycina* (Ag) Wille. A : stade végétatif à cytoplasma homogène. B : début de l'état granulaire caractérisé par l'accumulation des granules mobiles à chaque extrémité de la cellule. C : stade préluquant à la formation des zoospores; le cytoplasma est totalement granuleux.
- Fig. 9. — *Spirogyra jugalis* (Dillw.) Kütz. Cette figure semi-schématique de la portion médiane de la cellule, montre le double système granulaire cytoplasmique : celui qui constitue la portion rayonnante périnucléaire et celui qui est constitué par des travées longitudinales sous-pariétales. On n'a figuré, dans un but de simplification, que la partie antérieure des spires chlorophylliennes.
- Fig. 10, 11, 12, 13. — Aspects morphologiques successifs d'une travée rayonnante du cytoplasma de *Sp. jugalis*.
- Fig. 14. — *Spirogyra inflata* (Vauch) Rab. Cellules en voie de conjugaison offrant de nombreuses plages granulaires, particulièrement importantes au niveau des cônes de conjugaison.
- Fig. 15. — De a à g, projection horizontale de divers trajets parcourus par des corpuscules cytoplasmiques animés du mouvement brownien dans les cellules de *Sp. inflata* de la figure 14.

(1) Les huit premières figures de la planche IX ont seules été reproduites à leur échelle d'observation; toutes les autres sont très réduites.

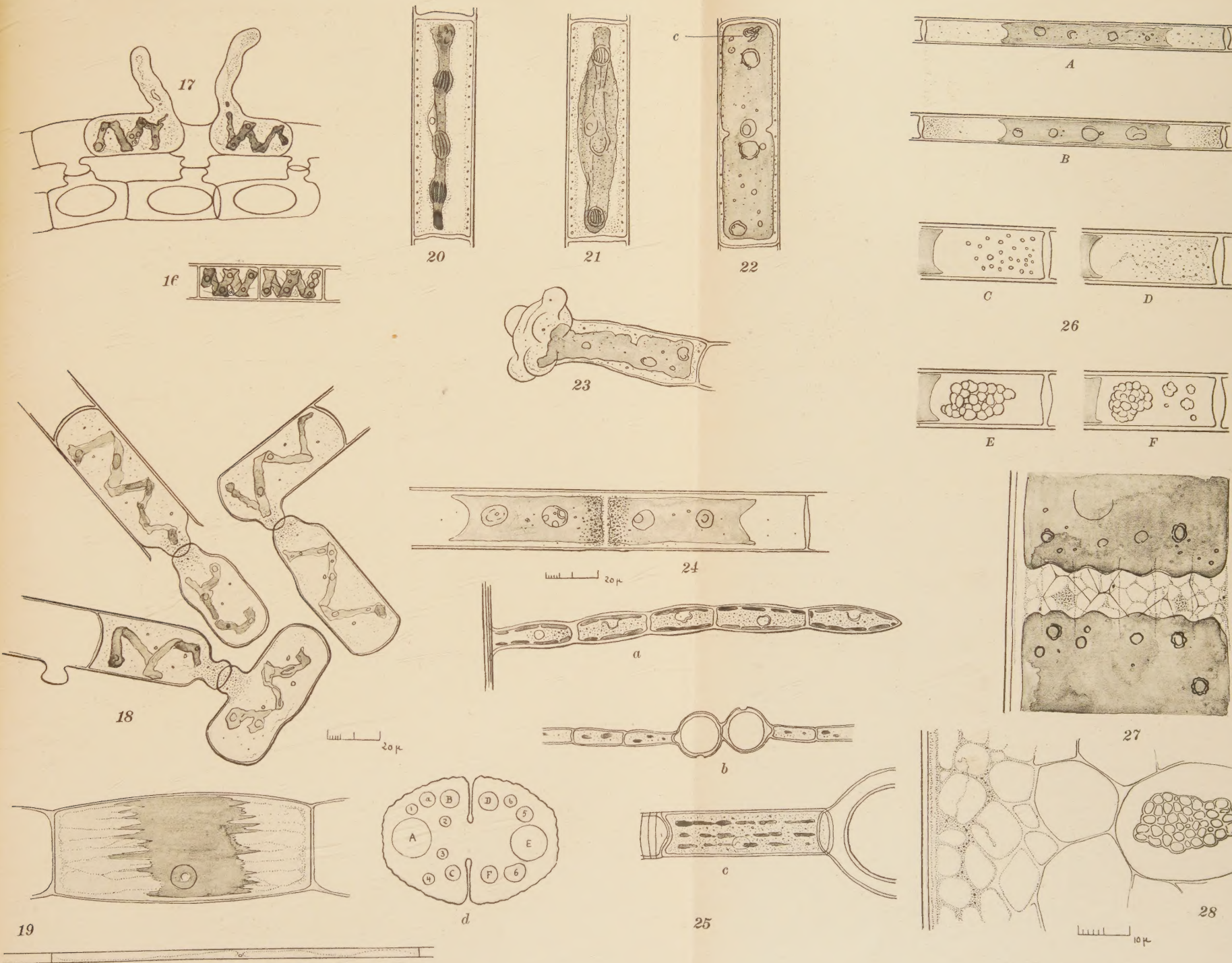


Et. Leblond, ad nat. del.

PLANCHE X

PLANCHE X

- Fig. 16. — Cellules végétatives de *Spirogyra varians* (Hassal) Ktz.
- Fig. 17. — Conjugaison scalariforme de *Sp. varians*; certaines cellules intercalaires, demeurées stériles, émettent des pseudo-rhizoïdes dans lesquels les mouvements granulaires sont particulièrement actifs.
- Fig. 18. — *Spirogyra catenaeformis* (Hassal) Kutz. Formes de conjugaison atypique. Le cytoplasma des cellules est à l'état de sol et les granules sont condensés au niveau des tubes de conjugaison.
- Fig. 19. — *Draparnaldia glomerata* (Vauch) Agardh. Aspect granulaire du cytoplasma des cellules à chromatophore et de celui des cellules qui forment les poils pluricellulaires.
- Fig. 20, 21, 22. — *Mougeotia scalaris* Hass. Cellules végétatives montrant les aspects successifs du mouvement de rotation effectué par la bande chromatophorique et la répartition des corpuscules cytoplasmiques.
- Fig. 23. — Cellule fixatrice de *M. scalaris* dans laquelle les corpuscules sont irrégulièrement répartis.
- Fig. 24 et 26. — *Mougeotia calcarea* (Clève) Witt. Dans A (fig. 26) le cytoplasma est constitué par des granules uniformément répartis dans toute la cellule; en B'ils sont polarisés au voisinage des cloisons transversales; D, C, F, E représentent à un grossissement plus considérable les stades successifs de leur évolution. La figure 24 indique la disposition des granules mobiles durant la division cellulaire.
- Fig. 25 a. — *Edogonium* sp. Stade embryonnaire d'une plantule dont toutes les cellules présentent un cytoplasma à l'état de sol.
- b. *Edogonium Braunii* Kützing; la cellule qui supporte les oogones offre un cytoplasma entièrement granuleux.
- c. *Edogonium undulatum* A. Br. Comme dans l'espèce précédente, le cytoplasme de la cellule qui est en contact avec l'oogonie est à l'état de sol et se trouve constitué par de fins granules animés du mouvement brownien.
- d. *Cosmarium Botrytis* Meneg. Schéma de la répartition des différentes plages de corpuscules cytoplasmiques mobiles.
- Fig. 26. — Voir fig. 24.
- Fig. 27. — *Closterium tunula* (Mull) Nitzsch. Aspect cytologique de la portion médiane de la cellule.
- Fig. 28. — La même région, à un grossissement plus considérable, montrant la structure du cytoplasme, entièrement granuleux dans le voisinage de la paroi et totalement hyalin autour du noyau.



Et. Leblond, ad nat. del.

